ZOOLOGY LIBRARY
UNIVERSITY OF TORONTO
3 1761 03779496 3

Digitized by the Internet Archive
in 2010 with funding from
University of Ottawa

http://www.archive.org/details/archivesdebiolog26li

Biol D
20
429-2
I

ARCHIVES

DE

BIOLOGIE

FONDÉES PAR

Ed. VAN BENEDEN et Ch. VAN BAMBEKE

PUBLIÉES PAR

O. VAN DER STRICHT
Professeur à l'Université
de Gand.

et

A. BRACHET
Professeur à l'Université
de Bruxelles.

Tome XXVI

LIEGE,
H. VAILLANT-CARMANNE (S. A.)
IMPRIMEUR
8, rue St-Adalbert.

PARIS,
MASSON et Cie
Éditeurs-libraires de l'Académie de Médecine.
120, boulevard St-Germain.

1911

121497
2/4/12

QH
301
A557
t.26

TABLE DES MATIÈRES

Tome XXVI

Pages

Recherches sur l'embryologie des Mammifères. De la segmentation, de la formation de la cavité blastodermique et de l'embryon didermique chez le Murin, par Edouard VAN BENEDEN (planches I à V) 1

Observations et Expériences relatives à l'action exercée par des extraits d'œufs et d'autres substances sur les Spermatozoïdes, par J. DE MEYER (planches VI et VII). 65

Recherches sur les œufs di-et-trispermiques de grenouille, par Maurice HERLANT (planches VIII à XII) 173

Etudes sur les localisations germinales et leur potentialité réelle dans l'œuf parthénogénétique de *Rana fusca*, par A. BRACHET (planche XIII) 337

Vitellogenèse dans l'ovule de Chatte, par René VANDER STRICHT (planches XIV à XIX) 365

Le tissu interstitiel et les corps jaunes de l'ovaire, par Nicolas POPOFF (planches XX, XXI, XXII, XXIII. 483

Le Thymus de l'Axolotl, par A. P. DUSTIN (planches XXIV et XXV) 557

le mémoire *in-extenso* qui était annoncé dans la communication préliminaire de 1899.

Malheureusement tout texte faisait défaut ; dans le volumineux amas de notes manuscrites qui m'a été confié, je n'ai rien trouvé qui se rapportât à ce travail.

J'ai cru cependant qu'il serait utile pour la science, que les résultats objectifs auxquels Ed. Van Beneden était arrivé après de longues années de recherches, fussent livrés à la publicité. Car ce mémoire, tant par la richesse de la documentation que par le scrupule dans l'exécution et dans le choix des dessins, ne l'eut cédé en rien aux autres œuvres du grand embryologiste belge.

J'ai donc pris la décision de rédiger un texte, mais je tiens à bien préciser la façon dont je me suis acquitté de cette tâche.

Les documents que je possédais étaient les suivants : la note préliminaire de 1899, qui résume tous les faits essentiels et formule les conclusions principales ; des croquis, faits à la chambre claire, d'œufs étudiés vivants ou *in toto*, accompagnés de quelques indications sommaires sur l'aspect et la constitution générale de l'objet étudié ; enfin, une série de plusieurs centaines d'œufs et de blastocystes débités en coupes avec la corne utérine qui les contenait : j'ai pu retrouver dans ce matériel presque toutes les préparations qui ont été dessinées, et il m'a été possible de reconnaître dans chaque cas, la raison qui avait déterminé le choix des figures ; j'ajouterai, que dans plusieurs de ces longues conversations que les amis et les élèves d'Ed. Van Beneden aimaient tant, il m'avait parlé des résultats de ses recherches et des doutes qu'il avait encore sur certains points.

Je possédais donc des éléments suffisants pour une description objective des faits et j'avais aussi un fil conducteur assez sûr pour me permettre d'établir l'enchaînement des stades.

Toutefois, dans la rédaction d'un travail scientifique telle qu'on la comprend habituellement, la personnalité de l'auteur se manifeste aussi bien dans la partie descriptive que dans le reste ; le plan adopté, la façon de présenter les faits, font que le lecteur prévoit les conclusions et qu'il est préparé à comprendre les considérations théoriques qui terminent l'ouvrage.

Or, je ne suis pas l'auteur de ce travail ; rien ne m'autorise à substituer une rédaction personnelle à celle qu'eut pu écrire Van Beneden, et à le rendre responsable d'un texte qu'il n'eut peut-être pas approuvé.

Aussi me suis-je contenté d'exposer simplement ce qu'Ed. Van Beneden avait découvert, d'indiquer ce que signifient les dessins qu'il avait fait exécuter, et de fournir la démonstration objective des conclusions formulées par lui dans la note de 1899. Si j'avais développé ces conclusions, si j'avais comparé ses observations à celles faites, depuis lors, par d'autres auteurs sur des sujets analogues, si j'avais ajouté un chapitre de considérations générales, j'aurais pu trahir la pensée du Maître : aussi m'en suis-je abstenu.

Plus tard, quand ce travail sera sorti de presse, quand il sera établi que le mérite des observations qui y sont relatées revient Ed. Van Beneden seul, je pourrai, comme tout autre embryologiste, les discuter, les confronter avec d'autres et en tirer des considérations qui n'engageront que ma propre responsabilité. Pour le moment, mon unique but est d'honorer la mémoire du Maître disparu en augmentant, dans la mesure de mes moyens, les droits personnels qu'il a à la reconnaissance du monde scientifique.

Pénétré de ces idées, j'ai décrit scrupuleusement, mais exclusivement, les œufs qui ont été figurés et qui sont reproduits sur les planches, en respectant l'ordre que l'auteur leur avait assigné par le numérotage des dessins. A l'aide de tous les documents dont je disposais, je les ai rattachés les uns aux autres, afin de mettre en lumière la continuité des divers processus et j'ai répété, presque sans y rien ajouter, les conclusions formulées en 1899. En agissant ainsi je suis sûr de n'avoir rien dit que Van Beneden n'eût pu exprimer lui-même.

Cependant, en de rares endroits, j'ai dû déroger à cette ligne de conduite. Il ressort de l'examen des figures et des préparations quelques faits dont l'importance n'a certainement pas échappé à Ed. Van Beneden, mais qu'il n'a pas mentionnés dans ses travaux antérieurs, peut-être parce qu'il se réservait d'en faire une analyse plus complète. J'ai cru devoir les sou-

ligner ; toutefois dans l'ignorance où je suis de la signification réelle que leur reconnaissait l'auteur du travail, j'ai mis entre parenthèses les réflexions qu'ils m'ont suggérées. S'il s'y trouve des erreurs, j'en suis seul responsable. Enfin j'ai employé les mêmes parenthèses chaque fois qu'un doute ou une explication nécessaire m'obligeait à faire reparaître ma personnalité.

Il est évident que ce travail ne sera pas ce qu'il eut été si Ed. Van Beneden l'avait écrit lui-même. Avec son puissant esprit de synthèse, il en eut certainement tiré des conclusions d'une haute portée scientifique. Je n'ai pas à m'en excuser : il n'est pas en mon pouvoir de réparer la perte qu'a fait faire à la Science la mort d'Ed. Van Beneden.

A. BRACHET.

INTRODUCTION.

L'époque de l'ovulation, de la fécondation et des premières segmentations de l'œuf chez les Chauves-souris, de même que certains détails concernant la biologie sexuelle de ces animaux ont été signalés dans des travaux antérieurs, et notamment en 1880. (Ed. Van Beneden et C. Julin : Observations sur la maturation, la fécondation et la segmentation de l'œuf, chez les Cheiroptères. *Arch. de Biologie,* t. I.) Il serait sans grand intérêt d'y revenir. Presque tous les œufs qui seront décrits dans ce travail ont été observés en avril, et ont été recueillis de 1881 à 1891. Les récoltes ont été particulièrement fructueuses en 1887, 1888, 1889 et 1891 ; elles ont fourni les stades les plus importants et les coupes les mieux réussies.

Il est indispensable, pour se faire une idée exacte de l'aspect réel des premiers stades de la segmentation, de les étudier tant sur le vivant, ou sur des préparations montées *in toto*, que sur des coupes sériées de l'œuf contenu dans la corne utérine. Il est des détails admirablement visibles sur l'œuf vivant et que la fixation fait disparaître ; en outre, l'œuf étant contenu dans l'utérus, son orientation réelle n'est pas connue et il peut avoir été entamé par le rasoir suivant un plan qui en rend l'étude très difficile ; on verra par la suite que certaines questions ne peuvent être résolues par la seule méthode des coupes.

Voici le procédé employé pour examiner les œufs vivants : on étale l'utérus sur un porte-objet et on le coupe en travers, soit à l'union des deux cornes, soit au niveau de l'orifice tubaire droit, l'œuf étant toujours dans la corne droite chez le Murin. Avec le manche d'un scalpel, on frotte la surface de l'organe en appuyant légèrement : l'œuf est ainsi amené petit à petit en regard de la surface de section et tombe dans une goutte de sérum artificiel de Kronecker, que l'on a préalablement déposée sur la lame.

Dans le sérum, les œufs se conservent pendant un temps

relativement long, parfois 2 heures et plus, sans altération notable Après examen, on peut faire apparaître certains détails en ajoutant une goutte d'acide osmique à 1 %, ou d'une solution faible d'acide chromique. On peut aussi les fixer par les réactifs histologiques ordinaires, mais ils se modifient toujours fortement dans leur aspect.

Plusieurs centaines d'œufs et de blastocystes ont été fixés *in situ* avec la corne utérine dans laquelle ils étaient contenus. Les fixateurs employés ont été : l'acide nitrique, le liquide de Kleinenberg, le sublimé additionné d'acide acétique, le chlorure de platine (liquide de Hermann) et le liquide de Flemming. On laissait agir le réactif pendant 1 à 5 heures. Les colorations ont été faites en masse au carmin boracique. La majorité des cornes utérines ont été débitées en coupes longitudinales de $^1/_{100}$ de millimètre d'épaisseur. Quelques-unes ont été coupées transversalement.

(Le liquide de Flemming employé comme il vient d'être dit, c'est-à-dire n'agissant que pendant très peu de temps (en général 1 $^1/_2$ à 2 heures) donne souvent de fort belles préparations qui sont très bien colorées par le carmin boracique. Mais il va de soi que cette coloration est d'autant meilleure que l'action de l'acide osmique s'est fait moins sentir.

En général, la muqueuse utérine et l'œuf n'ont été pénétrés que par l'acide chromique et par l'acide acétique. Néanmoins toutes ces préparations sont remarquables par la netteté des colorations nucléaires et des délimitations cellulaires.)

Les stades du développement du Murin qui seront décrits dans ce travail, s'étendent depuis l'œuf fécondé jusqu'à l'apparition de la ligne primitive. Aussi, pour plus de facilité, diviserons-nous notre exposé en deux grands chapitres : I. La segmentation de l'œuf et la formation de la cavité blastodermique. II. La formation de l'embryon didermique et de la cavité amniotique primaire.

CHAPITRE I.

La segmentation de l'œuf et la formation de la cavité blastodermique.

Ce chapitre sera lui-même subdivisé en deux paragraphes : le premier comportera la description des œufs examinés sur le vivant ou *in toto* ; le second sera consacré à l'étude des œufs débités en coupes sériées dans la corne utérine.

§ 1. — *Nous décrirons ici les œufs représentés dans les fig. 1 à 15 de la Pl. I.*

Fig. 1. — C'est un œuf de *Vesperugo dasycnema*; il est le seul de cette espèce qui figure dans les planches, tous les autres sont des œufs de Murin.

Il a été observé le 30 mars 1882 ; son diamètre mesuré sur le vivant est de 0 mm, 1176. Deux globules polaires sont nettement visibles ; une troisième masse globuleuse, située du côté droit, est plus difficile à identifier ; il est peu probable que ce soit le 3e globule polaire ; elle appartient plutôt à un ensemble de gouttelettes et de granulations que l'on trouve constamment dans l'œuf des Chauve-souris, dans l'espace périvitellin, au voisinage des globules polaires, et qui ont été expulsées de l'œuf en même temps que ces derniers. (Cf. Ed. Van Beneden et C. Julin ; *Arch. de Biologie*, t. I).

Le vitellus de l'œuf est constitué de deux couches : une couche corticale, claire et homogène ou finement granuleuse, et une couche médullaire chargée de gouttelettes et de granulations réfringentes. Cette dernière affecte la forme d'un croissant dont les cornes se rapprochent du pôle germinatif ; elles se continuent là dans une zone plus finement granuleuse et d'aspect spécial qui s'étend, en traversant la couche corticale, jusqu'au fond de la fossette où siégent les deux globules polaires. La concavité du croissant médullaire est occupée par

une tache plus claire remplie en grande partie par un gros pronucleus, bien visible sur le vivant.

Un second pronucleus, plus petit, est situé juste entre les pointes du croissant médullaire.

Il s'agit donc ici d'un œuf fécondé dont les deux pronucléi sont en train de se rapprocher. Sa polarité est nettement caractérisée par la structure du vitellus et la disposition des pronucléi.

Fig. 2. — Cet œuf a déjà été figuré en 1880. (*Arch. de Biologie*, t. I, pl. XXII, fig. 5). Il n'est pas décrit spécialement dans le texte, mais dans l'explication des planches on lit : " Œuf de Murin retiré de l'oviducte le 28 décembre 1870. Par le carmin appliqué après l'action de l'acide osmique, la partie centrale des globules polaires s'est colorée en rose. L'un de ces corps paraît en voie de division. „

Cependant les notes de laboratoire contiennent un croquis très exact de cet œuf, qui y est renseigné comme ayant été observé le 16 mars 1876. Une erreur de notation se sera donc glissée dans le mémoire de 1880. Le diamètre de l'œuf, mesuré sur le vivant, était de 0 mm. 1074.

Le croissant médullaire de la figure précédente est devenu un anneau complet par suite de la soudure de ses deux cornes ; le centre de cet anneau est occupé par une plage claire où se trouvent logés les deux pronucléi, fort bien visibles après fixation et coloration par le carmin ; chacun d'eux contient un gros nucléole.

La comparaison des fig. 1 et 2 indique bien que l'accolement des deux pronucléi s'est effectué suivant une ligne correspondant à l'axe vertical de l'œuf. La fermeture du croissant médullaire a fait disparaître la bande de cytoplasme différencié qui aboutissait au pôle germinatif, et la couche corticale du vitellus passe sans interruption sous les globules polaires.

Fig. 3. — Œuf de Murin observé le 3 avril 1882, et provenant d'un envoi du 31 mars. Les Chauve-souris avaient donc séjourné 3 jours dans le laboratoire. L'œuf se trouvait dans

l'oviducte, tout près de l'utérus. Il est segmenté en deux blastomères de taille inégale, mais d'aspect identique sur le vivant. Le plus volumineux s'étend et s'étale un peu sur l'autre.

Les noyaux, difficilement visibles, apparaissent comme des taches claires, vaguement délimitées, occupant le centre d'un amas de globules et de granulations réfringentes. Comme dans l'œuf fécondé, le vitellus de chaque blastomère est composé d'une couche médullaire entourant le noyau, et d'une couche corticale claire et en apparence homogène.

Aux deux extrémités du plan de division, on voit un globule polaire; la petite masse représentée en haut et à droite dans la figure est peut-être le 3me globule. Tous trois sont entourés de gouttelettes et de granulations claires et brillantes qui ont été expulsées de l'œuf avec les globules polaires et se disséminent dans l'espace périvitellin ; quelques spermatozoïdes sont mêlés à ces granulations.

Après traitement par l'acide osmique chaud, les blastomères gonflent un peu, tandis que la zone pellucide se rétracte. L'espace périvitellin s'efface, mais l'inégalité des deux blastomères devient d'autant plus frappante que le petit prend une teinte un peu plus brune que l'autre.

Fig. 4. — Œuf de Murin observé le 1er avril 1882, et provenant d'un envoi fait le 28 mars. Plusieurs individus du même lot, examinés le 30 mars, avaient dans l'oviducte des œufs fécondés, mais non segmentés.

L'œuf figuré a été retiré de la corne utérine, étudié sur le vivant, et dessiné de face. Il est segmenté en 4 globes, transparents et finement ponctués, dont les noyaux apparaissent comme des taches mates, sphériques, contenant plusieurs nucléoles brillants. Au niveau de l'ancien pôle germinatif de l'œuf, que, pour plus de facilité, nous appellerons le pôle supérieur, se trouvent deux globules polaires nettement délimités par un bord réfringent, et facilement reconnaissables à une tache claire qui en occupe le centre et qui n'est autre chose que leur noyau. Les globules polaires sont situés au milieu d'amas de granulations de tailles très diverses entre lesquelles

on remarque encore trois spermatozoïdes. Dans le restant de l'œuf, le liquide périvitellin est tout à fait clair et hyalin. Nous connaissons ces détails pour les avoir déjà observés sur d'autres œufs.

Les globes de segmentation doivent retenir un instant notre attention. Parmi les quatre blastomères, deux sont un peu plus petits que les deux autres et leur vitellus est plus foncé ; l'un d'entre eux est régulièrement sphérique sur la vue d'ensemble et est aisément reconnaissable, l'autre est plus convexe et occupe le côté droit du dessin.

Les deux blastomères plus gros se touchent par des surfaces planes et dans l'orientation donnée à la figure, ils sont situés l'un à gauche et l'autre au centre.

(Bien que n'ayant pas découvert sur le croquis d'étude d'indication spéciale, je crois que l'œuf, après avoir été étudié sur le vivant, a été fixé à l'acide osmique, lequel a fait apparaître, dans le vitellus des blastomères, les zones corticale et médullaire que le dessin représente nettement.)

Fig. 5. — Œuf de Murin retiré de l'oviducte et examiné vivant, le 3 avril 1882.

Il est segmenté en quatre. Les globules polaires sont très fragmentés et leurs débris se disséminent dans les sillons qui séparent les blastomères ; le liquide périvitellin tient encore en suspension de nombreuses granulations et des spermatozoïdes plus ou moins altérés.

L'étude des globes de segmentation est fort instructive. L'œuf est vu par son pôle supérieur ou à peu près (comparer avec fig. 4). Les différences de taille et d'aspect des blastomères sautent aux yeux ; deux d'entre eux sont plus petits et plus foncés, les deux autres plus grands et plus pâles.

Les quatre blastomères sont régulièrement groupés deux à deux, donnant ainsi à l'ensemble de l'œuf tous les éléments d'une symétrie bilatérale dont le plan, passant entre les deux gros et les deux petits globes est, dans la figure 5, obliquement dirigé en haut et à droite.

Sur le vivant, les noyaux dans chaque globe ont l'aspect de

taches claires, à surface muriforme, chaque bosselure superficielle revêtant un nucléole. Dans le vitellus, on retrouve les couches corticale et médullaire avec leurs caractères habituels.

L'œuf que nous venons de décrire, peut être facilement dérivé de celui que représente la figure 3 ; chacun des deux blastomères du premier stade s'est divisé en deux, suivant un plan perpendiculaire au premier plan de segmentation et passant, comme lui, par les pôles.

L'œuf segmenté en 2 (fig. 3) est également symétrique bilatéral : seulement, le plan de cette symétrie est perpendiculaire au premier plan de segmentation, et dès lors, on peut dire que dans l'œuf segmenté en 4 (fig. 5), c'est la seconde division qui est faite suivant le plan de symétrie bilatérale.

Nous reviendrons là-dessus un peu plus loin.

D'autre part, il suffit d'examiner la figure 4 pour reconnaître que si l'œuf qu'elle représente avait été dessiné, vu de son pôle supérieur, l'image obtenue aurait été très analogue à la figure 5. Un croquis de ce genre, pris à la chambre claire, mais non reproduit dans les planches, confirme d'ailleurs ce que nous venons de dire. Il en résulte que les œufs des figures 4 et 5 sont susceptibles de la même interprétation, et sauf quelques détails accessoires, sont absolument identiques.

Fig. 6. — Œuf de murin segmenté en 4 : deux blastomères sont plus volumineux, deux autres plus petits et un peu plus foncés ; dans tous les quatre on retrouve les couches corticale et médullaire du vitellus ; les noyaux n'apparaissent que comme des taches claires irrégulières. Deux globules polaires sont appliqués contre le blastomère qui, dans la figure, est situé à gauche.

La situation des quatres globes de segmentation est très différente de ce qu'elle est dans la figure 5, et l'orientation des plans de division diffère de ce qu'elle était dans les deux autres œufs du même stade que nous avons étudiés jusqu'ici. Il semble qu'après la première segmentation, la disposition des deux premiers blastomères était bien celle de la figure 3, mais qu'au

cours de la deuxième, l'un de ces deux blastomères s'est divisé suivant un plan horizontal, l'autre suivant un plan vertical. Dès lors la symétrie bilatérale, si elle existe encore dans cet œuf, ne présente plus de relation certaine avec la segmentation.

(Aucune note manuscrite n'accompagnant le croquis qui a été pris de cet œuf au moment où il a été examiné, j'ignore l'aspect qu'il offrait vu sous une autre incidence. Etant donné la disposition quelque peu aberrante des blastomères, j'ai cherché à en faire une reconstruction plastique, en m'appuyant sur les détails du dessin. J'ai pu ainsi me convaincre que l'interprétation donnée plus haut est exacte : le gros blastomère du stade de la fig. 3 s'est effectivement divisé suivant un plan vertical (l'axe de l'œuf étant considéré comme vertical) et perpendiculaire au premier, comme dans les figures 4 et 5, mais le petit paraît s'être segmenté suivant un plan horizontal. Il en résulte que, dans l'œuf divisé en quatre, les deux gros blastomères sont juxtaposés, tandis que les deux petits sont superposés.

Toutefois, il est très possible que cet aspect spécial soit dû à un déplacement secondaire, à un mouvement de rotation des globes de segmentation les uns sur les autres, résultant d'une pression anormale subie par l'œuf pendant les manipulations.

Ce n'est là qu'une hypothèse ; si elle est inexacte, la figure 6 comparée aux autres témoignera des variations possibles de la direction des premiers plans de segmentation chez les mammifères.)

Fig. 7. — Œuf de Murin observé le 14 Avril (?). Il est très intéressant parce qu'il est segmenté en cinq blastomères, dont l'un est beaucoup plus petit que les quatre autres, qui sont sensiblement de même taille. L'aspect du vitellus et des noyaux est identique à ce qu'il est dans les autres œufs. Toutefois le petit globe est plus pâle.

Il n'y a qu'une seule interprétation possible : Un des blastomères du stade 4 a subi une division inégale, donnant ainsi naissance à 2 cellules, une petite et une grande. Nous pouvons aller plus loin encore et dire que cette division s'est effectuée

très probablement suivant un plan horizontal, c'est à dire perpendiculaire à l'axe de l'œuf ; en effet, les deux globules polaires qui occupaient le pôle supérieur, sont accolés au petit blastomère. N'oublions pas cependant qu'un déplacement de ces globules a pu se produire.

Il est impossible de préciser, par le seul examen de la figure lequel des quatre premiers blastomères à subi cette division inégale.

Fig. 8. — Œuf de Murin observé le 1er avril 1882. Il provient de la partie tout à fait inférieure de l'oviducte.

Il est segmenté en six globes dont les noyaux apparaissent comme des taches claires et dont le vitellus présente les deux couches caractéristiques, seulement ils sont de dimensions très inégales. Il y en a deux gros, fort semblables entre eux ; ils sont presque superposés dans le dessin et occupent le haut de la figure. Un autre, situé en bas, est notablement plus petit et repose en partie sur un quatrième qui le déborde fortement vers la droite et est encore de dimensions plus réduites. Enfin, les deux derniers se caractérisent par leur taille restreinte, encore que celui de droite soit plus gros que celui de gauche.

Il est très difficile, en examinant simplement le dessin, de reconnaître l'orientation qu'ont affectée les deux premiers plans de segmentation, et il est probable que des déplacements secondaires se sont produits.

Toutefois, un point est certain : si l'on compare les fig. 7 et 8, on doit admettre qu'un second blastomère du stade quatre a subi une division inégale. Dans l'œuf figuré sous le n° 8, les 6 blastomères se répartissent en 3 groupes : deux gros, deux moyens et deux petits ; mais nous avons fait remarquer que si les deux gros sont très sensiblement égaux, les quatre autres sont nettement groupés : à droite le plus petit des moyens est accolé au plus gros des petits et à gauche c'est l'inverse. Les moyens et les petits blastomères résultent donc, sans aucun doute, de la division inégale de deux blastomères de même ordre du stade quatre.

(Nous avons vu qu'au stade à quatre blastomères, il y en a

deux gros et deux petits, groupés deux à deux (fig. 5). Lequel de ces deux groupes a subi une division inégale ?

Il est très difficile de répondre à cette question dont l'importance ressortira plus loin. Cependant, en comparant le volume des gros blastomères à la masse totale des moyens et des petits, on a l'impression que le progrès de la segmentation a porté sur les deux petits. Cela est d'autant plus plausible qu'*en général* la rapidité de la division cellulaire est en raison inverse de la dimension des cellules. C'est là une loi bien connue.)

Signalons pour terminer la description de cet œuf, la présence, dans le liquide périvitellin, de débris des corpuscules polaires, mêlés aux granulations habituelles.

Fig. 9. — Œuf de Murin observé le 17 avril 1881. Il est d'une netteté et d'une clarté qui contrastent avec l'obscurité relative de certains autres.

Il est divisé en 8 globes qui se répartissent très exactement en 4 micromères et 4 macromères, *à la condition, bien entendu, de n'attacher à ces termes que leur signification étymologique.* Toutefois un examen attentif révèle de légères différences de taille entre les micromères, comme entre les macromères. Les deux groupes de blastomères sont séparés par un plan sensiblement horizontal.

Cet œuf, tel qu'il est figuré, a la constitution typique d'un œuf d'amphibien, par exemple, arrivé au stade 8. Nous savons que chez la grenouille ou chez le triton ce stade est atteint par la formation successive de deux sillons verticaux et perpendiculaires entre eux, puis d'un sillon horizontal et latitudinal, c'est-à-dire passant entre le pôle supérieur et l'équateur. Par analogie nous pourrons aussi chez le Murin, appeler latitudinal, le plan de séparation des micromères et des macromères.

La comparaison des figures 8 et 9 permet de constater qu'il n'y a qu'une seule façon de passer de l'une à l'autre : c'est d'admettre, non pas une division des deux micromères déjà formés, mais une nouvelle segmentation inégale, en micro et macromères, subie par les deux gros blastomères restés jusqu'alors inactifs.

Il en résulte, par conséquent, qu'au stade que nous décrivons, chacun des quatre blastomères visibles sur les fig. 4 et 5, s'est divisé par un plan latitudinal en deux cellules inégales, et que selon toutes probabilités, le stade à 8 blastomères a été atteint par le même processus que chez les Amphibiens.

(Tous les stades décrits jusqu'ici d'après les observations faites sur le vivant sont du plus haut intérêt et pourraient servir de point de départ à de très suggestives considérations.

Tout en désirant ne pas me départir de la ligne de conduite que j'ai adoptée, je voudrais cependant insister sur l'importance des faits que nous venons d'exposer, envisagés au double point de vue de la symétrie bilatérale de l'œuf et de la potentialité des premiers blastomères.

J'hésite d'autant moins à développer ce point qu'Ed. Van Beneden a été l'un des premiers à attirer l'attention sur ce chapitre capital de l'embryologie.

Ainsi qu'il est dit plus haut, le stade à 8 blastomères de l'œuf du Murin est en tout point analogue au même stade de l'œuf d'un Amphibien, de Rana fusca par exemple. Or, l'œuf de Rana est peut-être le mieux connu au point de vue de sa structure intime, de sa " prospektive Potenz „ et de sa " prospektive Bedeutung „. Fécondé, il présente une symétrie bilatérale visible extérieurement, et il est établi actuellement que le plan de cette symétrie devient toujours le plan médian du corps de l'embryon. Si l'on suit la marche de la segmentation, on constate que le 1er plan de division coïncide très souvent avec le plan de symétrie bilatérale; le 2e plan lui est perpendiculaire et le 3e est latitudinal.

Le 2e plan, par son orientation même, divise l'œuf en une partie craniale et une partie caudale, et il est aujourd'hui parfaitement démontré, que la moitié craniale est plus active que l'autre, que la segmentation s'y fait plus rapidement et que notamment le 1er sillon latitudinal y apparaît d'abord pour ne s'étendre que plus tard dans la moitié caudale. Le résultat est que l'œuf de Rana se divise d'abord en 2, puis en 4, puis en 6 et finalement en 8. Il est intéressant de constater qu'il en est

de même chez le Murin. Mais il y a plus : dans l'œuf de grenouille on voit presque toujours que le 2e plan de division ne passe pas exactement par les pôles, mais bien un peu au devant, de telle sorte que l'œuf segmenté en 4 est formé de 2 blastomères craniaux un peu plus petits que les deux blastomères caudaux. Cette différence n'est pas toujours considérable, mais elle est parfois fort nette et l'aspect de l'œuf est alors exactement celui de la fig. 5 du présent travail.

Enfin, l'œuf de Rana en segmentation nous permet un dernier rapprochement fort intéressant avec celui du Murin. Quand le 1er plan de division passe par le méridien de symétrie bilatérale, les deux premiers blastomères formés sont de taille égale. Mais il est des cas, dénommés par Roux anachronismes de la segmentation, où le 1er plan occupe la situation du 2e et fait un angle droit avec le méridien de symétrie. Dans la majorité des cas de ce genre que j'ai observés et pour la raison que j'ai indiquée plus haut, les deux premiers blastomères sont inégaux, l'un, le cranial étant un peu plus réduit que son congénère de la partie caudale de l'œuf.

N'est-ce pas absolument ce que l'on constate dans la fig. 3 ? L'œuf de Murin se segmente aussi en deux blastomères inégaux séparés par un sillon qui est perpendiculaire au plan de symétrie bilatérale de l'œuf; seulement ici c'est précisément l'inégalité de taille des blastomères qui permet de reconnaître cette symétrie.

On fera remarquer qu'Ed. Van Beneden a observé des œufs de Murin segmentés en 3 (la fig. 16 en représente un cas), un autre divisé en 5 blastomères, et qu'il est difficile de donner une interprétation de ces anomalies.

On les rencontre aussi chez Rana fusca et elles s'expliquent facilement. Depuis 1902, j'ai beaucoup étudié la segmentation de l'œuf de grenouille; or, j'ai vu souvent des œufs divisés en 3 et en 5 blastomères et cela dans les conditions suivantes : dans l'anachronisme de la segmentation, le 2e plan de division, qui passe par le méridien de symétrie, s'ébauche fréquemment dans le blastomère cranial d'abord, pour gagner peu à peu le blastomère caudal ; il y a donc un moment, court, mais réel,

pendant lequel l'œuf est composé de deux petites cellules et d'une plus grande. Les causes de l'apparition d'un stade à 5 blastomères sont du même ordre ; il arrive très souvent que le 1er plan de division fait un angle, non pas de 90°, mais de 45° avec le plan de symétrie bilatérale ; le 2e sillon, dans ces cas est simplement perpendiculaire au premier, et il en résulte que l'un des quatre blastomères formés est cranial, un autre caudal, et les deux autres latéraux.

Quand le sillon latitudinal apparaît, il débute très souvent dans le blastomère cranial, en vertu de la loi qui ressort de tout ce que j'ai dit plus haut. Il y a donc un stade très fugace, où l'œuf est segmenté en 5 blastomères, dont l'un très petit, est, par son volume, un micromère. N'est-ce pas ce que nous montre aussi la figure 7 ?

Peut-être ne sont-ce là que des analogies, mais elles n'en sont pas moins frappantes, et peuvent orienter les recherches dans une voie très fructueuse. Elles nous donnent aussi la clef des divergences existant entre les auteurs au sujet de la taille des deux premiers blastomères chez les mammifères. On a souvent contesté qu'ils étaient inégaux ; en réalité, il n'y a rien là d'absolu, ils peuvent être de même taille ou de taille différente ; cela dépend probablement des espèces et même des œufs dans une même espèce. Selon que le plan de division coïncide avec le méridien de symétrie ou lui est perpendiculaire, les deux premiers globes de segmentation seront égaux ou inégaux.

Il serait abusif ou tout au moins prématuré, en se basant sur les considérations que nous venons d'émettre, de reconnaître aux premiers blastomères de l'œuf du Murin, la même potentialité qu'à ceux de l'œuf de grenouille en segmentation anachronique. Ce serait aller trop loin, dans l'état actuel de nos connaissances, que de transformer en une homologie, ce qui n'est peut-être qu'une simple analogie. D'autant plus que l'œuf des mammifères a une tâche plus lourde à remplir que celui des Amphibiens, il doit développer un ectoplacenta qui assurera la nutrition de l'embryon.

On peut cependant considérer comme probable que les deux premières cellules issues de la segmentation chez les mammifères, interviennent toutes deux dans la constitution de l'embryon pour une part que l'avenir déterminera peut-être.

Bien du temps se passera encore avant que l'on puisse appliquer à l'œuf des Mammifères les procédés de l'embryologie expérimentale, et d'ici-là la méthode comparative est la seule dont nous puissions disposer.

Si je me suis permis des comparaisons et même des interprétations dans les lignes qui précèdent, c'est parce qu'il m'a paru que l'admirable étude qu'Ed. Van Beneden a faite des œufs vivants méritait plus qu'une simple description; si un jour la potentialité de l'œuf des Mammifères se révèle à nous comme conforme aux prévisions, on devra lui attribuer tout le mérite d'une découverte aussi importante.)

Fig. 10. — Œuf de Murin observé le 3 avril 1882. Comme le précédent, cet œuf est divisé en 8 globes, ayant la structure habituelle du vitellus; les noyaux apparaissent comme des taches mates parsemées de quelques corpuscules brillants. Dans la zone pellucide, on trouve encore quelques spermatozoïdes, et dans le liquide périvitellin, des amas de granulations résultant, en partie, de la désintégration des globules polaires.

Parmi les 8 blastomères, on voit très bien qu'il y en a 4 gros et 4 notablement plus petits. L'œuf est beaucoup moins clair et moins régulier que l'autre du même stade, mais il semble incontestable que les 4 grands globes et les 4 petits sont groupés, les uns d'un côté, les autres de l'autre. L'objet est certainement vu obliquement, d'où une certaine difficulté dans l'analyse.

Après traitement par l'acide chromique à $^1/_{500}$, les noyaux deviennent plus visibles et paraissent régulièrement granuleux; il en est de même du vitellus des blastomères, lesquels ne tardent pas à s'altérer.

(Cet œuf est loin d'avoir la régularité de celui qui est représenté dans la fig. 6. Van Beneden le reconnaît dans une note manuscrite.

A certains points de vue, on doit le rapprocher de la fig. 6; il est possible qu'il se soit produit des déplacements secondaires dans la topographie des blastomères.

Quelle est leur importance réelle ? Nous l'ignorons et dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons que signaler l'existence de variantes dans l'aspect des divers stades de la segmentation.

Chez de nombreux organismes, le développement typique peut subir des déformations qui n'altèrent en rien le résultat final.)

Fig. 11. — Œuf de Murin observé le 6 avril (1882 ?). Il est endommagé ; aussi on ne peut en donner qu'une analyse sommaire. Il paraît être segmenté en 24 blastomères et d'autre part, il est certain : 1) qu'il y a des différences considérables dans les dimensions des blastomères ; 2) qu'un certain nombre de grands blastomères sont contigus sans qu'il y en ait de petits interposés entre eux ; de même les petits blastomères sont en général accolés les uns aux autres, et groupés d'un même côté de l'œuf. Toutefois il est impossible d'affirmer que les micromères forment une véritable couche enveloppante en voie d'épibolie, car il semble que quelques uns d'entre eux soient plus centraux et incorporés à la masse enveloppée.

Il est difficile de préciser exactement l'incidence sous laquelle cet œuf est vu dans le dessin ; son axe est à coup sûr fortement oblique, et le pôle inférieur doit se trouver au-dessous du centre de la figure.

Fig. 12. — Œuf de Murin observé le 30 Avril 1888. On y remarque 12 à 16 grands blastomères et un nombre plus considérable de petits, ces derniers étant eux-mêmes de taille fort variable. Le protoplasme de tous les blastomères est très clair et contient des globules réfringents autour des noyaux.

(Telles sont les brèves notes accompagnant le croquis ; l'examen minutieux de la figure ne me permet d'ajouter aucun détail.)

Fig. 13. — Œuf de Murin observé le 30 Avril 1888. Il est divisé en 16 blastomères environ. Les contours sont bien accusés, brillants. Ils sont de tailles différentes, mais on ne constate aucune régularité dans la répartition des grands et des petits.

*
* *

Ainsi que cela ressort de l'examen des trois dernières figures, l'étude sur le vivant des œufs en segmentation se complique beaucoup dès que le nombre de blastomères dépasse la dizaine et il serait illusoire de chercher à analyser par ce moyen des phénomènes quelques peu compliqués, comme, par exemple, une épibolie de la part des micromères. Les différences de taille entre les blastomères vont d'ailleurs en diminuant, et il est évident que dans cette régulation, les divisions répétées des macromères jouent un rôle important.

Fig. 14 et 15. — Blastocyste de Murin observé in toto après imprégnation par le nitrate d'argent. Dans la fig. 14 on a mis au point la surface extérieure de la couche enveloppante ; les cellules sont régulièrement polygonales et délimitées par des traits noirs. Dans l'amas cellulaire central, qui est mis au point dans la fig. 15, on voit la formation de la cavité blastodermique par apparition de vacuoles irrégulières, séparées par des tractus de cytoplasme parfois nucléés. Ces deux figures ont été reproduites et décrites dans la note de 1899 (page 313). Il n'y a rien à ajouter à ce qui a été dit alors.

§ 2. — *La segmentation de l'œuf du Murin étudiée sur des coupes sériées de la corne utérine qui le contient. La formation de la cavité blastodermique.*

Sauf indication spéciale, la corne utérine contenant l'œuf à toujours été coupée longitudinalement. Il est indispensable de tenir compte de cette mention, parceque, dès que l'embryon devient reconnaissable comme tel, son diamètre cranio-caudal est dans l'axe de la cavité utérine.

Fig. 16. — Murin nº 4, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf est segmenté en trois ; il est signalé mais non

décrit dans la communication de 1899. L'œuf se trouve sur 6 coupes à $^1/_{100}$ de mm., dont la 3me a été dessinée ; il semble cependant que la 1re coupe manque, ce qui modifierait le numérotage.

En examinant la figure et en la comparant avec la série des coupes, on constate aisément que l'un des trois blastomères est plus volumineux et possède un noyau vésiculeux, trilobé, pauvre en chromatine. Les deux autres blastomères sont de taille sensiblement égale ; leur noyau est sphérique, régulier et se colore faiblement.

Dans les trois cellules, le cytoplasme a le même aspect clair et finement granuleux. L'espace périvitellin a disparu sauf au niveau des sillons de segmentation ; en haut, on y voit quelques granulations non colorées, correspondant à celles qui ont été décrites dans les œufs vivants.

De l'examen de cet œuf, on peut simplement conclure que l'un des deux premiers blastomères est susceptible de se diviser avant l'autre ; il est impossible de préciser d'avantage.

Enfin, il est utile de constater que la composition en vitellus, si clairement représentée dans les dessins d'œufs vivants, est totalement effacée. On verra qu'il en est de même dans la plupart de autres stades.

Fig. 17. — Murin no 9, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. Cet œuf, très beau et très clair, se présente sur 7 coupes, dont la 4me a servi à faire le dessin. Il est divisé en 15 ou 16 blastomères environ ; ce chiffre n'est qu'approximatif, parce que la première coupe manque certainement.

La figure montre très bien les différences de taille entre les cellules de segmentation ; les plus réduites ont des noyaux plus petits aussi et plus vivement colorés, tandis que les noyaux des autres sont vésiculeux et plus pâles. Il est possible que cette différence d'aspect soit due à ce que les premiers viennent de se reconstituer après une mitose.

En examinant la série des coupes, on compte 7 petits blastomères et 4 gros ; les autres ont des dimensions intermédiaires. L'aspect du cytoplasme est sensiblement le même dans tous.

En ce qui concerne leur répartition, il est difficile de la déterminer de façon tout à fait exacte. Toutefois l'on peut dire : 1°) qu'il n'y a pas encore de bastomères nettement centraux, bien que la figure 17 offre des traces d'un chevauchement par lequel l'un des petits blastomères tend à s'engager dans la profondeur.

2° qu'en général les gros et les petits blastomères sont groupés, les deux groupes étant réunis par des formes intermédiaires. Ce fait est essentiel et se constate aisément, mais il est impossible de préciser d'avantage.

Fig. 18. — Murin n° 7, 1891. Sublimé, carmin boracique. L'œuf se présente sur 8 coupes successives, dont la 5me a été dessinée. On peut y compter une trentaine de blastomères environ ; une numération plus exacte serait fort sujette à caution.

La figure caractérise le stade, en ce qu'elle montre une volumineuse cellule centrale, entourée de toutes parts par d'autres. Sur la coupe figurée, les blastomères sont plus petits à droite, où ils sont disposés en une rangée régulière de 4 éléments. L'examen des autres coupes indique qu'en réalité l'œuf est composé en grande majorité de petits blastomères ; la grosse cellule centrale est la plus profonde et la plus volumineuse d'un groupe de 3 ou 4, dont 2 affleurent, vers la gauche, à la surface de l'œuf. Enfin, il y a des cellules de taille intermédiaire. L'une de ces dernières, visible sur l'avant-dernière coupe de la série, est en mitose, et l'axe de la mitose est orienté de telle sorte que si aucun déplacement secondaire n'intervient, les deux cellules filles resteront corticales.

Fig. 19. — Le porte-objet portant les coupes étant brisé, l'œuf n'a pu être complètement étudié. Il semble avoir été fixé au liquide de Flemming et coloré au carmin boracique. Il occupe 6 ou 7 coupes, dont le dessin reproduit fort exactement la 4me. Toutefois ce que l'on peut voir des autres coupes indique assez que les différences de taille et d'aspect entre les blastomères sont peu accusées. Dans la figure, le blastomère

central est à peine plus grand que les autres et son noyau n'offre aucune particularité.

En somme, cet œuf, sans montrer d'épibolie vraie, indique qu'à des stades relativement peu avancés, certaines des cellules de segmentation deviennent centrales.

Fig. 20. — Murin II, 1887. Liquide de Kleinenberg, carmin boracique. L'œuf existe sur 6 coupes, dont la figure représente la 4me. Bien qu'il soit moins bien conservé que les précédents, on peut reconnaître qu'il est composé d'environ 20 à 25 blastomères. Dans le haut de la figure se trouvent les restes d'un des globules polaires. L'inégalité de taille des blastomères saute au yeux, de même d'ailleurs que l'irrégularité de leur groupement. Sur une coupe précédant celle qui a été dessinée, une cellule occupe le centre de l'œuf, mais elle n'est pas plus volumineuse que certaines de celles qui sont rangées à la périphérie.

Moins encore que les autres, cet œuf ne peut servir à la démonstration d'une épibolie des macromères par les micromères, si toutefois on peut encore employer ces expressions, à des stades ou la régulation de la taille des cellules a déjà fait de grands progrès.

Fig. 21. — Murin n° 21, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique. La figure représente la 5me coupe de l'œuf qui est entamé par 8 coupes successives. La zone pellucide a été complètement dissoute par les réactifs, et c'est probablement pour cette raison que le contour de la figure est irrégulier, bosselé. La numération exacte du nombre total des blastomères est très difficile : on peut en compter 25 à 28. Le petit corps sphérique contenant un grain fortement coloré est très vraisemblablement le reste d'un des globules polaires.

La figure 21 met en évidence, mieux encore que la précédente, l'irrégularité très grande de la répartition des gros et des petits blastomères. Cette irrégularité est certes réelle, mais elle est exagérée par l'orientation des coupes, laquelle est souvent défectueuse, étant donné l'impossibilité de la déterminer d'avance. Même dans le cas où une véritable épibolie se

produirait, des coupes latitudinales ou équatoriales permettraient difficilement de la reconnaître. En tous cas, dans l'œuf dont il est question ici, la figure montre très bien que les quelques blastomères centraux ne diffèrent par aucun détail de la plupart de ceux qui les enveloppent.

Fig. 22. — Murin nº 15, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf comporte 9 coupes; la 6me a été dessinée. Il est segmenté en 25 à 30 blastomères. Des restes de globules polaires se retrouvent dans le bas du dessin.

Encore une fois les différences de taille entre les cellules sont très réelles, mais, même sur la série des coupes, on ne peut reconnaître aucun groupement déterminé. On a l'impression, surtout quand on examine les noyaux, que ces différences sont dues à ce que les mitoses se font sans ordre régulier.

Les quelques blastomères qui occupent le centre de l'œuf ne diffèrent des autres, ni par leur taille, ni par leur aspect.

Il n'y a qu'une seule cellule en mitose ; elle se voit dans la figure 22, et est au stade de la plaque équatoriale. Il est intéressant de constater que le grand axe du fuseau achromatique est presque radiairement orienté, de sorte que s'il ne se produit aucun déplacement, l'une des deux cellules filles deviendra centrale, tandis que l'autre restera périphérique.

Nous trouverons encore, dans la suite, plusieurs cas analogues et nous les signalerons, parce que ce détail a peut-être une valeur plus grande qu'il n'apparaît à première vue.

Fig. 23. — Murin 1 (Sans autre indication.) L'œuf est déformé; il se présente sur 6 coupes dont la 3me a été dessinée.

Il est divisé en une quarantaine de blastomères dont quelques uns sont centraux et entourés par les autres. Tous sont identiques tant par leur taille que par leur aspect. Quelques noyaux, plus petits et plus colorés, semblent provenir d'une mitose récente. Une belle plaque équatoriale est représentée dans le dessin et, comme sur la figure précédente, l'axe du fuseau achromatique, fort bien visible, est radiaire. Sur la 4e

coupe de l'œuf, une autre cellule corticale est en voie de division, mais ici le grand axe de la figure est tangentiel, de sorte que les deux cellules filles resteront corticales, à la condition, naturellement, qu'aucun déplacement secondaire n'intervienne.

Fig. 24. — Murin, nº 43, 1891. Sublimé, carmin boracique. L'œuf comprend 7 coupes ; la figure est la 4e. Il est à un stade notablement plus avancé que le précédent, et il est devenu impossible de compter le nombre des cellules ; on peut seulement dire qu'il y en a de 80 à 100.

L'examen du dessin, comme l'étude de la série des coupes, montre que l'œuf est formé d'un amas compact de cellules toutes semblables, et moulées les unes sur les autres. Celles qui sont superficielles s'engrènent par leur face profonde avec celles qui occupent le centre, et si l'on peut dorénavant parler d'un amas central, on n'est pas encore autorisé à distinguer une *couche* enveloppante plus ou moins bien délimitée.

Du côté droit de la figure, on voit une légère dépression ; si cet œuf ou les précédents avaient présenté des indices nets d'un processus d'épibolie, on pourrait considérer cette dépression comme étant due au bord d'arrêt de la couche enveloppante, et la rapprocher de celle qu'on observe à des stades semblables, chez le lapin par exemple (Ed. Van Beneden, 1880). Mais les faits sont insuffisants pour nous autoriser à admettre sans réserve une semblable interprétation.

Fig. 25. — Murin nº ?. Fixateur ? Carmin boracique.

La figure représente la 4e coupe de l'œuf qui en comporte 6. L'une d'entre elles est déchirée, de sorte qu'il est impossible de compter, même approximativement, le nombre des blastomères ; il est en tous cas notablement moins grand que dans le cas précédent.

Ainsi qu'on peut en juger par le dessin, l'œuf offre une polarité assez nette, en ce sens qu'une calotte de cellules plus foncées, dépassant l'équateur, recouvre un amas d'éléments plus clairs et *parfois* un peu plus grands. Mais si on examine la face concave de cette calotte, on voit qu'elle est très irrégulière et pénètre par places dans l'amas interne. De plus les

cellules qui la composent sont de taille assez variable; l'une d'entre elles, très grande, située à droite dans le dessin, est à la prophase de la mitose.

Sur la coupe précédente, une plaque équatoriale apparaît dans la grande cellule claire qui occupe le pôle inférieur de la figure ; le grand axe du fuseau est placé tangentiellement par rapport à la surface.

De la description que nous venons de donner, il résulte que l'on peut considérer cet œuf comme montrant des traces de l'épibolie d'une masse cellulaire compacte, par une calotte de cellules légèrement différenciées.

Fig. 26. — Murin E. 1887, Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf est entamé par 6 à 7 coupes dont la 4e a été dessinée. Il est au même stade que celui de la fig. 24 et est surtout remarquable par la grosse cellule en mitose, à grand axe tangentiel, représentée dans le bas du dessin.

Dans la masse cellulaire centrale, il y a plusieurs noyaux en chromatolyse et des indices de désintégration du cytoplasme.

Quelques cellules renferment des vacuoles rares et plus ou moins volumineuses.

Fig. 27. — Murin B. Sublimé, carmin boracique.

Cet œuf s'est fortement rétracté sous l'influence des réactifs. Il n'existe que sur 4 coupes, dont la 2e est figurée.

Il est superflu d'en faire une description qui ne serait que la répétition de ce que nous avons dit à propos de la figure 24.

Fig. 28. — Murin, no 30, 1891. Sublimé, carmin boracique.

L'œuf est entamé par 6 ou 7 coupes; c'est la 3e qui a été dessinée.

Il est sensiblement au même stade que le précédent, mais se signale par un détail intéressant. En certains points, la couche des cellules périphériques tend à se régulariser par sa face profonde et à prendre ainsi l'aspect d'une véritable lame enveloppante, formée de cellules cubiques. Toutefois, cela ne se voit guère que sur la coupe figurée ; sur celle qui précède, on

trouve deux cellules corticales plus grandes et plus claires que les autres, et dont le noyau est en mitose. Or, dans toutes deux, le grand axe de la figure achromatique est radiairement orienté. Il est donc probable que des 4 cellules filles sur le point de se former, deux auraient été incorporées dans la masse centrale, tandis que les deux autres seraient restées corticales.

Fig. 29. — Murin, n° ?. Liquide de Kleinenberg, carmin boracique.

Cet œuf a été décrit dans la communication préliminaire de 1899 et y est représenté dans la fig. 1, page 310. La production du dessin étant assez défectueuse dans l'anatomisher Anzeiger, nous en donnons une nouvelle image, qui est scrupuleusement exacte.

L'œuf se présente sur 7 coupes dont la 3me a été dessinée. C'est la seule sur laquelle la calotte de cellules claires ait une étendue aussi considérable; elle n'existe que sur les 4 coupes moyennes. Les cellules sombres sont très serrées les unes contre les autres, formant une masse compacte; le carmin a coloré leur cytoplasme d'une façon un peu diffuse.

La ligne de séparation entre la calotte claire et l'amas sombre est épaisse et vivement colorée; de même le long des cloisons intercellulaires un précipité de matière colorante exagère la netteté de celles-ci.

La zone pellucide a été complètement dissoute par les réactifs.

Parmi les centaines d'œufs en segmentation dont se compose le matériel, on n'en trouve aucun qui puisse être rapproché de celui qui vient d'être décrit. D'autre part, l'aspect très clair des cellules superficielles contraste avec la coloration plus sombre que prennent toujours les éléments de la couche enveloppante, lorsqu'ils sont bien différenciés. Enfin, les précipités de carmin, l'aspect trouble de la masse partiellement enveloppée, rendent cet œuf suspect au point de vue de sa bonne conservation.

Aussi, malgré sa netteté apparente, ne peut-il être considéré comme suffisant pour permettre d'affimer l'existence d'une véritable épibolie. (Voir la communication préliminaire de 1899.)

Fig. 30. — Murin, nº 32, 1891. Sublimé, carmin boracique.

La figure est la 4e coupe de la série qui en comporte 8 en tout. Une d'entre elles étant déchirée, il est impossible de déterminer, même approximativement, le nombre des blastomères, mais le stade est visiblement très voisin de celui qui est représenté dans la fig. 28.

Dans la coupe dessinée, comme dans les deux autres qui la précèdent, on remarque certains noyaux plus grands et plus vésiculeux; le protoplasme qui les entoure est parfois plus clair.

Les cellules superficielles tendent à s'isoler en une couche enveloppante qui commence à se délimiter à sa face profonde; par places, en effet, elles s'engrènent moins intimement avec les éléments qui composent la masse centrale de l'œuf.

Sur la 3me coupe de la série, deux cellules claires, avec un gros noyau vésiculeux, affleurent à la surface de l'œuf (en haut et à gauche en se repérant sur la fig. 30) et l'image donne là l'*impression* d'une épibolie encore inachevée. En y regardant de plus près cependant, on voit qu'il est bien d'autres points encore, où la couche enveloppante et l'amas central se pénètrent et perdent toute délimitation.

Un autre détail visible sur une des coupes qui suivent celle qui a été dessinée, doit encore rendre très prudent sur la question de l'épibolie : c'est l'existence, dans la partie supérieure et droite de l'œuf (en se repérant sur la fig. 30), d'une cellule qui achève sa mitose ; les deux cellules filles sont en train de se séparer ; or, l'une d'entre elles fait partie intégrante de l'amas central, tandis que l'autre est incorporée dans la couche corticale.

Il y a encore une autre cellule corticale en mitose dans cet œuf : elle est située en haut et à gauche dans la 2e coupe ; c'est une plaque équatoriale, vue trop obliquement pour que l'on puisse déterminer exactement l'orientation du grand axe du fuseau achromatique.

Fig. 31. — Murin, nº 5, 1887. Liquide de Flemming, carmin boracique.

La figure est la 5me coupe de l'œuf, qui en comporte 7. La zone pellucide est complètement dissoute; les cellules, très rétractées, chevauchent les unes sur les autres, rendant ainsi l'analyse des coupes très difficile. La seule particularité qui mérite d'attirer l'attention, c'est le nombre considérable de mitoses.

Il y en a 4 sur la figure 31 et on en trouve encore d'autres sur les coupes précédentes et suivantes. Comme sur les autres œufs étudiés jusqu'ici, elles siégent toutes dans la couche corticale, ou dans les cellules qui lui sont immédiatement sous-jacentes. Ainsi qu'on peut le voir, leur orientation est variable : tangentielle, oblique ou radiaire.

Fig. 32. — Murin n° 14, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf est entamé par 9 coupes, dont la 6me a été dessinée. Elle est très analogue à la figure 30, mais la délimitation de la couche enveloppante, à sa face profonde, est beaucoup moins nette.

Vers le bas, on remarque un reste de globule polaire, et dans la masse des cellules centrales, plusieurs noyaux en chromatolyse, avec commencement de dégénérescence du cytoplasme qui les entoure. Les cellules en nécrose n'ont pas de répartition topographique spéciale.

En résumé, cet œuf confirme, sans rien ajouter de neuf, ce que nous avons observé jusqu'ici.

Fig. 33. — Murin n° ?, 1887. Fixation ? carmin boracique. L'œuf existe sur 7 à 8 coupes ; la figure en représente la 5me. L'utérus qui le contient a été coupé transversalement.

Deux points méritent d'attirer notre attention : 1°) La figure montre que la couche enveloppante tend à se délimiter nettement vis-à-vis de l'amas central, et à prendre en plusieurs endroits, l'aspect d'un épithélium cubique régulier. 2°) Toutefois, le processus n'est probablement pas achevé : dans le bas du dessin se trouve une belle figure mitosique, dont le grand axe, radiairement placé, fait penser à un intervention des cellules superficielles dans la formation des cellules centrales.

Sur une autre coupe du même œuf, existe encore une autre mitose, identique par sa situation comme par son orientation.

Fig. 34. — Murin n° 5, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf comporte 10 coupes ; la figure en re-représente la 6me. Son intérêt réside en ce que la couche corticale (enveloppante) se détache assez nettement, grâce à un aspect un peu plus sombre des cellules qui la composent. Vers la droite elle semble être interrompue au niveau d'une grosse cellule en mitose, dont on voit, de face, la plaque équatoriale. Sur les autres coupes de l'œuf, on trouve, toujours dans la couche corticale, plusieurs autres cellules au même stade de division.

Il est à remarquer que le stade de la segmentation, c'est à dire le nombre des blastomères, n'est pas sensiblement plus grand que dans les œufs immédiatement précédents. Dès lors, la coloration spéciale de la couche enveloppante, ou bien peut disparaître sous l'influence de la fixation, ou bien est sujette à des variations individuelles

Fig. 35 — Murin n° 47. Fixation ? carmin boracique. La figure est la 4me coupe de l'œuf qui en comporte au moins 8 L'utérus qui le renferme a été coupé transversalement. La couche enveloppante se détache bien et, en général, revêt l'aspect d'un bel épithelium cubique, un peu plus sombre dans l'hémisphère supérieur de l'œuf que dans l'hémisphère inférieur.

L'amas central montre, sur la figure, une cellule en mitose ; il en est d'autres encore, sur les coupes précédentes et suivantes.

En certains points, notamment dans le haut du dessin, l'amas des cellules centrales se décolle un peu de la couche enveloppante, comme si du liquide s'accumulait entre eux. On remarque également à droite du centre de l'œuf une grosse cellule dont le noyau est contenu dans une couche médullaire de protoplasme plus compact et plus sombre, qui se fond dans une zone corticale claire. Peut-être s'agit-il là d'un début de formation du liquide blastodermique. (Voir plus loin)

Fig. 36. — Murin 1, 1887. Liquide de Flemming, carmin

boracique. L'œuf se présente sur 7 coupes, dont la 5me a été dessinée. Les deux coupes précédentes (nos 3 et 4), auraient donné une image tout à fait semblable. La comparaison avec les figures précédentes indique que la délimitation de la couche enveloppante est de plus en plus manifeste ; les cellules ont un cytoplasme plus sombre qui les rend facilement reconnaissables. Toutefois il est important de remarquer que dans la moitié droite de la figure (et de l'œuf), ces caractères spéciaux s'effacent, et une bande de cellules plus claires, semblables à celles qui constituent l'amas central, achève de limiter la surface de l'œuf.

Ce n'est donc pas une interprétation, mais bien une constatation objective de dire que, dans cet œuf, la couche enveloppante, en tant que couche différenciée, est encore incomplète. Nous avons constaté des faits semblables dans les figures 34 et 35.

Fig. 37. — Murin ? 1887. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf existe sur 7 coupes. La 5me a servi à exécuter le dessin, mais certains détails ont été pris sur la coupe précédente ; la figure est donc une combinaison de deux coupes. La différence dans l'aspect de la couche enveloppante et de l'amas des cellules centrales a été un peu exagérée, mais elle est très réelle. La description des œufs précédents permet de ne pas insister longuement. Au pôle inférieur de la figure, un petit groupe de cellules plus claires, ayant les caractères de l'amas central, vient s'interposer entre les dernières cellules sombres. La différenciation d'une couche enveloppante à stucture caractéristique est donc en progrès sur la figure 36 ; elle ne fait défaut qu'en un petit point de la surface de l'œuf.

Si l'on tient compte de ce que les derniers œufs décrits sont à des stades très voisins de la segmentation, et se composent d'un nombre sensiblement égal de cellules, on doit en conclure qu'il y a, dans la rapidité de la formation de la couche enveloppante, de légères différences individuelles.

Fig. 38. — Murin no 18, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf existe sur 10 coupes ; la figure en

représente la 4me ou la 5me. Le diamètre de cet œuf est donc notablement plus grand que celui des précédents. L'examen de la série des coupes révèle d'ailleurs qu'il est à un stade plus avancé que ne l'indique son nº d'ordre ; en coupe de pôle à pôle, il ressemblerait fort à la fig. 43 ; seulement, il est coupé très obliquement. L'œuf est d'ailleurs assez médiocre ; les limites cellulaires ne sont pas indiquées. La coupe est destinée à démontrer la formation dans le cytoplasme, spécialement vers le centre de l'œuf, de vacuoles dont plusieurs renferment un produit coagulé et rétracté, légèrement coloré en brun.

Fig. 39. — Murin nº 38, 1891. Chlorure de Platine (liquide Hermann ?), carmin boracique. L'œuf s'étend sur 9 coupes, dont la 5me a été dessinée.

La figure montre : 1º) la formation de vacuoles, qui, étant donné leurs rapports avec les noyaux, sont certainement intracellulaires ; 2º) la localisation de ces vacuoles dans une région déterminée de l'œuf (partie inférieure du dessin) ; 3º) la destruction chromatolytique de plusieurs noyaux de l'amas cellulaire central et la fonte du protoplasme qui les entoure.

Ce sont ces détails, importants au point de vue de la formation de la cavité blastodermique, qui ont décidé du choix du dessin.

La coupe suivante (nº 6) du même œuf montre beaucoup plus nettement l'existence d'une couche enveloppante continue et aussi bien différenciée que dans la figure 5, page 315 de la communication préliminaire de 1899. A partir de ce moment, on peut dire que l'œuf segmenté est composé d'un amas central de cellules serrées les unes contre les autres, et entouré de toutes parts d'une couche enveloppante, formée d'un épithélium cubique bien régulier, à cytoplasme généralement plus sombre. (Voir la note de 1899.)

Fig. 40.— Murin IV, 1887. Sublimé, carmin boracique. Cet œuf, un peu moins avancé que le précédent, a été décrit et figuré en 1899, dans l'anatomischer Anzeiger, mais la reproduction y étant défectueuse, nous croyons utile de publier à nouveau le dessin.

Plusieurs coupes de la série sont perdues ; aussi préférons-nous nous borner à répéter la description donnée à la page 311, du volume XVI de l'anat. Anz. : „La figure 2 représente la coupe médiane d'un autre œuf, où la distinction en une couche périphérique et une masse interne est également incontestable. Dans cet œuf, fixé au sublimé, les cellules de la couche périphérique sont plus sombres que celles de l'amas enveloppé. La couche périphérique est d'ailleurs incomplète : quelques cellules voisines affleurant à la surface ont le même aspect clair que les cellules de l'amas central : elles occupent l'orifice de la couche enveloppante.„

Il n'y a rien à ajouter, et l'on ne peut que rapprocher la fig. 40 de la fig. 37, qui représente un stade et un aspect complètement identiques.

Fig. 41. — Murin nº 25, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf se présente sur 9 coupes ; la figure en représente la 4me. Il est segmenté en une bonne centaine de cellules.

L'étude de la série entière permet de reconnaître à cet œuf une polarité évidente, due à une différence d'aspect entre les deux hémisphères. Dans l'un d'entre eux, que nous appellerons inférieur, des vacuoles nombreuses et irrégulières occupent les parties de l'amas central les plus proches de la couche enveloppante et préparent la formation de la cavité blastodermique. Au dessus de l'équateur, au contraire, la disposition est celle que nous avons observée au stade précédent : une couche enveloppante formée d'un épithelium cubique, revêt un amas de cellules polyédriques, moulées les unes sur les autres.

On ne peut relever ces détails qu'en reconstruisant l'œuf par la série des coupes. Celle qui a été figurée est, en effet, fort oblique ; elle passe par l'équateur dans une moitié, et en dessous de lui dans l'autre. Elle est cependant intéressante à différents points de vues. D'abord, la couche enveloppante y est très reconnaissable grâce à son aspect plus sombre : la différence de coloration a cependant été un peu exagérée sur le dessin.

Les vacuoles sont très nombreuses, surtout en bas et à gauche, c'est-à-dire dans la partie sous équatoriale de la préparation ; les unes, certainement intracellulaires, sont remplies d'un produit coagulé, et légèrement coloré en brun verdâtre par l'acide osmique ; les autres, plus grandes, plus irrégulières aussi et très claires, sont séparées par de minces tractus protoplasmiques ; vraisemblablement les plus grandes sont dues à la rupture de certains de ces tractus et à la confluance de vacuoles voisines.

Il est un fait remarquable que l'on constate facilement en bas et à gauche sur la fig. 41 : certaines cellules de la couche enveloppante semblent participer à la formation des vacuoles ; s'il en est ainsi, le liquide clair qu'elles forment est expulsé vers l'intérieur, dans la cavité blastodermique ; en outre, ce processus doit être très éphémère, car dans les stades suivants on n'en trouve plus trace. Nous donnons une forme dubitative à cet exposé, parcequ'il est fort possible que cette participation des cellules corticales soit une simple apparence, due à la pression exercée par le liquide qui s'interpose entre elles et l'amas central, et qui déprime leur surface.

Les figures 38, 39 et 41 illustrent admirablement les premières phases de la formation de la cavité blastodermique, telles qu'elles sont décrites dans la note de 1899, aux pages 314 et 315. Dans cette note le nom de lécithocèle a été proposé pour désigner cette cavité.

Fig. 42. — Murin, n° 9, 1891. Chlorure de platine (Liquide de Hermann ?) carmin boracique. Le diamètre de l'œuf a encore légèrement augmenté, si bien qu'il occupe 11 coupes dont la 4me a été dessinée. On peut lui appliquer la même description et la même interprétation qu'à celui qui a été représenté dans la fig. 8, page 315, de la note de 1899.

La couche enveloppante est nette et distincte sur toute la surface de l'œuf ; elle est formée d'un épithelium cubique qui, par places, notamment là où il intervient dans la délimitation des vacuoles, s'abaisse un peu, comme s'il était distendu ; les noyaux prennent alors une forme ovalaire.

L'amas central, toujours formé de cellules moulées les unes sur les autres, se décolle, par toute une partie de sa surface, de la couche enveloppante. En cet endroit, l'ébauche du lécithocèle prend la forme d'un croissant, traversé par de multiples cloisons protoplasmiques, qui partant de la surface convexe de l'amas central, viennent se terminer, soit en s'effilant, soit en s'étalant, au contact des cellules corticales. Un ou deux noyaux peuvent s'engager plus ou moins complètement dans ces cloisons. L'origine centrale de ces tractus ne fait aucun doute après l'examen des préparations.

A ce stade, la cavité blastodermique commence à indiquer la forme qu'elle prendra bientôt, mais, en réalité, elle n'est encore formée que de grandes vacuoles de dimensions inégales.

Elles ont pour origine la confluence des vacuoles plus petites, irrégulièrement formées dans les cellules de la masse centrale à des stades antérieurs, et qui se sont accrues secondairement.

Dans les cellules de l'amas central, on retrouve encore, par ci par là, de grosses gouttelettes légèrement colorées en brun verdâtre par l'acide osmique.

Dans la partie de l'œuf opposée au lécithocèle et que nous pouvons appeler *portion embryonnaire*, la couche enveloppante tapisse régulièrement les cellules centrales et leur forme un revêtement continu.

Fig. 43. — Murin, 28, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

(Je n'ai pas retrouvé, dans les préparations, l'œuf qui a servi à exécuter ce dessin. Je dois donc me borner à signaler les particularités de la coupe).

Cette figure fait voir un mode de formation de la cavité blastodermique un peu différent de celui que nous avons vu dans l'œuf précédent. Il paraît s'être formé ici, dans le pôle anti-embryonnaire de l'œuf, une seule grande vacuole, qui n'aura qu'à grandir pour former le lécithocèle définitif.

Nous ne savons naturellement pas si cette grande vacuole, déjà intercellulaire, ne résulte pas de la confluence de vacuoles plus petites, intracellulaires.

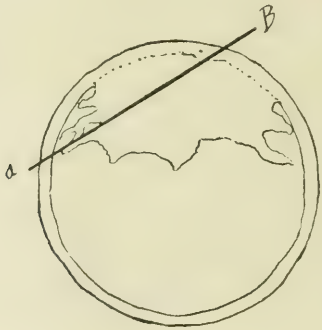
Quoiqu'il en soit, cet œuf aberrant doit être signalé à titre documentaire.

Fig. 44. — Murin, nº 33, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf a encore grandi ; on le trouve sur 12 coupes. Des restes d'une zone pellucide amincie l'entourent encore; cet aspect peut toutefois être dû à l'action des réactifs qui dissolvent facilement cette zone.

La figure est une combinaison de 2 coupes; la 3me et la 5me.

Le stade est en réalité plus avancé qu'on ne pourrait le croire par le seul examen du dessin.



La reconstruction d'une coupe méridienne de cet œuf donne l'image ci-contre ; le plan *a b* indique l'orientation réelle des coupes dans l'objet et la place occupée par les préparations qui ont été dessinées. L'amas central est refoulé dans l'hémisphère supérieur ; toute la partie moyenne du lécithocèle forme une vaste cavité, devenue unique par suite de la rétraction des prolongements de l'amas central. Il n'y a qu'au niveau des cornes du croissant que figure la cavité blastodermique, c'est-à-dire au pourtour marginal de l'amas cellulaire enveloppé, que le creusement par vacuoles isolées se poursuive encore. A ce point de vue, le dessin donne une bonne idée de la marche réelle du processus, et il peut être comparé à la fig. 15, où les mêmes détails se vérifient sur l'œuf examiné *in toto*.

Cet œuf démontre donc, que lorsque le licithocèle s'est formé dans l'hémisphère inférieur de l'œuf par vacuolisation, puis confluence des vacuoles, il s'étend, par le même processus, le long des faces latérales de l'amas central, jusqu'au voisinage du pôle supérieur de l'œuf, sans toutefois l'atteindre jamais.

Quant à la couche enveloppante, elle est bien délimitée de toutes parts, et n'offre aucun détail digne d'être mentionné.

Fig. 45. — Murin, nº 13. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le dessin est la 5e coupe de l'œuf, qui en comporte 9. Il est donc notablement plus petit que le précédent, mais il paraît un peu rétracté sous l'influence des réactifs. La cavité blastodermique, en forme de croissant régulier, est unique et continue; la confluence des vacuoles primitives est complète, et les tractus qui la parcouraient sont rentrés dans l'amas cellulaire central dont ils provenaient.

La couche enveloppante, formée dans toute son étendue par un bel épithélium cubique, délimite la cavité blastodermique dans la plus grande partie de son étendue. En haut seulement, dans la région que nous appelons le pôle embryonnaire, elle tapisse la surface du bouton cellulaire central, auquel elle est intimement accolée. Tout le reste de ce bouton fait saillie dans le lécithocèle par une surface fortement convexe. Cette saillie est irrégulièrement bosselée. En comparant les différentes figures, on arrive à cette conclusion, que ces bosselures sont le dernier vestige des tractus protoplasmiques qui, aux stades antérieurs, séparaient les vacuoles primaires de la cavité blastodermique, et qui se sont rétractés vers leur lieu d'origine.

Notons enfin la présence, dans l'amas central, d'un certain nombre de cellules dont le noyau est en chromatolyse.

Fig. 46. – Murin, nº 44, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Le blastocyste — nous pouvons, dès maintenant, employer ce nom — existe sur 10 ou 11 coupes (il en manque certainement une).

La figure est la 6e coupe de la série. Nous n'insisterons que sur un seul détail, mais particulièrement intéressant : non seu-

lement sur la coupe dessinée, mais sur toutes les autres, la cavité blastodermique contient de nombreux corpuscules sphériques, de taille variable, délimités par un contour net. Il sont un peu réfringents et parsemés de fines granulations; tous renferment 1, 2 ou 3 granulations vivement colorées en rouge. Il n'est pas douteux qu'il s'agisse là de cellules dégénérées, dont e noyau est en pycnose.

Cette observation appelle quelques remarques. A différentes reprises, au cours de notre description, nous avons signalé l'existence, spécialement dans l'amas central, de noyaux en chromatolyse dans un protoplasme en voie de dégénérescence.

Les débris cellulaires que nous venons de signaler dans le lécithocèle proviennent-ils de ces cellules qui auraient été expulsées, ou sont-ils les restes de certaines des travées qui découpaient primitivement le lécithocèle ? Les deux interprétations ne s'excluent pas, mais l'exactitude de la dernière ressort de quelques détails visibles sur les coupes. Dans la fig. 44, un noyau en début de pycnose siège au point d'insertion d'une des travées intra-blastodermiques; dans la figure 45, un autre noyau pycnotique semble se préparer à tomber dans le lécithocèle. Il semble donc que la formation de la cavité blastodermique, bien que résultant essentiellement d'un processus d'élaboration et de sécrétion des cellules, ne s'achève pas sans que certaines de celles-ci n'y trouvent la mort. Cela démontre bien que le lécithocèle est le résultat de l'activité propre des cellules de l'amas central. L'examen des figures précédentes, ainsi que des suivantes, montre que dans cet œuf, le nombre de cellules nécrosées est tout à fait anormal.

Fig. 47. — Murin, nº 4, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Le blastocyste s'est étendu ; il comporte 15 coupes successives ; la figure en représente la 6me. L'amas central, en forme de bouton saillant dans la cavité blastodermique, recouvert sur sa face supérieure par la couche enveloppante, occupe 8 coupes. Il n'a donc subi qu'un accroissement minime; l'augmentation du blastocyste est due à sa distension par la présence d'une quantité de liquide plus abondante dans le lécithocèle. (Gross. 650.)

Fig. 48. — Murin, nº 13, 1889, et *Fig. 49.* Murin, nº 20, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Nous décrirons en même temps ces deux œufs qui, d'ailleurs, ne nous arrêteront pas longtemps.

La comparaison avec la figure 45 montre mieux que toute longue description, ce qui se passe dans les phases qui suivent immédiatement l'achèvement du lécithocèle. Les deux blastocystes (fig. 48 et 49) ont été coupés longitudinalement avec la corne utérine. On voit qu'ils s'étalent en longueur, leur couche enveloppante se mettant en rapport intime avec la muqueuse. Il est possible toutefois qu'ils aient été aplatis mécaniquement par la rétraction des parois utérines au moment de la fixation.

Le 1er blastocyste s'étend sur 14 coupes, dont la 7e a été dessinée ; le 2e existe sur 13 coupes et la figure en représente la 6e.

L'amas central, toujours en forme de bouton saillant, s'est agrandi ; on y trouve des mitoses à côté de quelques noyaux en karyolyse. Dans la figure 49, sa surface convexe est encore irrégulière et garnie de prolongements cytoplasmiques peu étendus.

Déjà à ces stades, on peut, pour la facilité de la description ultérieure, distinguer deux hémisphères : l'un contenant l'amas central, est embryonnaire ; l'autre, opposé, sera appelé antiembryonnaire. A l'équateur, la couche enveloppante est un peu amincie sur les figures. Au niveau du bouton, elle le tapisse régulièrement, comme aux stades précédents.

Résumé et enchaînement des faits.

La longue série d'œufs et de jeunes blastocystes que nous venons de décrire, permet d'asseoir sur des bases positives les conclusions déjà formulées en 1899. Nous les reproduirons ici.

1º. Tandis que, dans les stades les plus jeunes, tous les blastomères sont superficiels et adjacents à la zone pellucide, aucun d'eux n'étant enveloppé par les autres, plus tard un ou plusieurs globes gagnent le milieu de l'œuf segmenté et se montrent entourés de toutes parts par les blastomères périphériques. Ce phénomène se produit toujours postérieurement

au stade 8 ; il ne paraît pas être lié à un stade fixe de la segmentation, mais être sujet, au contraire, à des variations individuelles.

2° Il est le plus souvent impossible de distinguer deux groupes de cellules dont l'un formerait une couche superficielle destinée à envelopper l'autre. Dans la plupart des œufs, tous les globes présentent le même aspect. On constate bien fréquemment des différences de dimensions, mais pas de groupement régulier des blastomères. Il y a cependant des cas où l'existence de deux catégories de cellules est tout à fait évidente: par exemple les fig. 34 à 37, 40.

A des stades divers de la segmentation, des indices d'un groupement des blastomères en une rangée superficielle incomplète et un amas enveloppé, ont été constatés et figurés, mais ils ne sont que des indices, insuffisants pour tirer une conclusion ferme, d'autant plus qu'ils sont loin d'être constants. On pourrait, en choisissant les seuls œufs qui montrent bien les deux catégories de cellules, et en les rangeant suivant un certain ordre, fabriquer une série démontrant, en apparence, l'existence d'une épibolie progressive, mais il n'est pas possible de faire abstraction des œufs qui ne présentent aucune trace de ce phénomène. On est donc simplement autorisé à dire qu'il existe, pendant la segmentation de l'œuf du Murin, des traces d'épibolie, mais on n'a pas le droit d'affirmer que ce processus se passe réellement.

3° Quoiqu'il en soit, tous les œufs de Murin arrivés à la fin de la segmentation, sont, au moment où le lécithocèle apparaît, constitués d'une couche périphérique complète (couche enveloppante), formée d'un épithélium cubique bien régulier, entourant de toutes part et revêtant immédiatement un amas interne, composé de cellules polyédriques moulées les unes sur les autres. La nature épithéliale de la couche enveloppante se reconnaît très bien lorsque l'on traite les œufs par le nitrate d'argent (fig. 14 et 15). Après que cette couche est délimitée, elle s'accroît au fur et à mesure que le blastocyste se dilate, mais elle le fait par ses propres moyens, sans que l'amas cellulaire interne lui fournisse de nouveaux éléments.

4° Peu après que la couche enveloppante a revêtu de toutes parts l'amas central, la cavité blastodermique commence à se former. Elle apparaît toujours, chez le Murin, sous forme de cavités multiples qui, plus ou moins rapidement, confluent de façon à former une cavité unique.

Ces vacuoles multiples se voient dans un des hémisphères de l'œuf et, de l'examen comparatif d'une série de jeunes blastocystes, il semble bien résulter : *a*) qu'après la segmentation, il apparaît des vacuoles dans celles des cellules de la masse enveloppée qui, aux stades subséquents, délimitent immédiatement la cavité blastodermique ; *b*) que ces cavités primitivement intracellulaires (intracytoplasmiques) perdent leurs parois par rétraction des lames protoplasmiques qui les séparent, ces lames s'incorporant à la surface convexe de l'amas central ; ainsi ces cavités deviennent confluentes et donnent naissance à la cavité blastodermique unique, définitive.

Il en résulte ce fait important, dont on saisira bien toute la portée dans le chapitre suivant, que les cellules qui ont, par un véritable acte de sécrétion, formé le liquide blastodermique, sont celles qui, tapissant la surface convexe de l'amas central, limitent immédiatement la cavité qui renferme ce liquide. Or, il sera démontré plus loin, que ce sont précisément ces cellules qui, dans les stades ultérieurs, vont donner naissance au feuillet interne de l'embryon didermique.

Selon toute probabilité, l'ensemble formé par ce feuillet interne et par la cavité blastodermique avec son contenu qui en procède, est l'homologue à la fois du vitellus nutritif, du deutoplasme liquéfié de la cavité sous-germinale, de la couche cellulaire qui la recouvre et des noyaux mérocytiques des Sauropsides. Chez ces derniers, tout cela constitue, en effet, une formation unique.

A cet ensemble, on peut réserver le nom de lécithophore (Ed. Van Beneden). La couche interne de l'embryon didermique des mammifères doit, dès lors, être appelée : couche lécithophorale, et l'on peut désigner sous le nom de lécithocèle (Ed. Van Beneden) la cavité blastodermique avec son contenu. Ces

dénominations ont le grand avantage de montrer l'origine commune de ces deux formations.

(Les lignes qui précèdent expriment exactement la pensée d'Ed. Van Beneden ; elles sont d'ailleurs la copie presque textuelle de divers passages de sa note de 1899. Le lecteur peut juger, par l'examen et la description des figures, de la richesse de la documentation qu'il s'était assurée avant d'exprimer ces importantes conclusions.

Je ne me permettrai pas de les développer davantage ; elles sont d'une clarté telle que tout commentaire serait superflu.

Quelques remarques pourtant se présentent à l'esprit concernant la question de l'épibolie et la formation de la couche enveloppante (trophoblaste de Hubrecht), et j'insisterai sur quelques points auxquels donnent de l'actualité les discussions qui ont surgi récemment, sur ce sujet, entre les spécialistes de l'embryologie des mammifères.

Conformément à la ligne de conduite que j'ai adoptée, je n'interpréterai pas et je ne comparerai pas ; j'attirerai simplement l'attention sur certains détails, observés par Van Beneden, puisqu'ils sont visibles sur les dessins et sur les préparations, et dont l'avenir confirmera peut-être l'importance.

On sait avec quelle prudence Ed. Van Beneden s'est exprimé sur la question de l'épibolie chez le Murin ; il s'est borné à dire que lors de la formation de la couche enveloppante, on peut trouver des indices d'épibolie, ou plutôt des dispositions qui peuvent être interprétées comme tels. Les figures jointes à ce travail, la description des œufs, justifient cette réserve. Mais deux faits se dégagent encore, que je vais brièvement exposer :

1° Les deux blastomères nés de la première segmentation de l'œuf, ne sont pas destinés à donner l'un la couche enveloppante et l'autre l'amas cellulaire central. Tous deux contribuent, pour une part qu'il est impossible de déterminer, à la constitution de ces deux formations, ce qui revient à dire que tous deux interviennent dans l'édification du corps de l'embryon et du placenta fœtal ;

2° Il est un détail, visible sur plusieurs des figures et très

fréquent sur l'ensemble des œufs composant le matériel, dont l'importance n'est pas négligeable. Pendant une série de stades, il y a dans l'œuf de nombreux blastomères centraux et corticaux, mais ils se pénètrent mutuellement, forment un amas compact, s'engrènent les uns dans les autres, même dans les cas où certaines cellules ont l'aspect plus sombre de la future couche enveloppante. Ce n'est que peu à peu que cette interpénétration cesse et que les cellules périphériques se rangent en un épithélium cubique régulier. Or, on a souvent sous les yeux des images qui donnent l'impression que cette délimitation (on pourrait dire délamination) se fait suivant un ordre déterminé, et apparaît d'abord dans un des hémisphères pour s'étendre progressivement à l'autre.

Ed. Van Beneden, avec beaucoup de raison, a considéré ce processus comme représentant un vestige d'épibolie, et une semblable interprétation me paraît non seulement admissible, mais fort vraisemblable.

Un autre point encore mérite d'être signalé :

A des stades très divers, mais antérieurs à la délimitation complète de la couche enveloppante, on trouve des cellules superficielles en mitose, dans lesquelles le grand axe de la figure achromatique est radiairement placé ; nous en avons vu dont les deux cellules filles étaient en train de s'isoler : l'une d'entre elles restait corticale, tandis que l'autre s'engageait dans l'amas central.

Encore une fois, je ne veux pas tirer de conclusion de ces observations, d'autant plus que des déplacements secondaires des cellules filles peuvent se produire, mais elles semblent cependant indiquer que la différenciation des blastomères en un amas central et en une couche enveloppante ne s'accomplit que progressivement, ne commence même qu'à des stades relativement avancés de la segmentation, et affecte plutôt les caractères d'une délamination que ceux d'une épibolie véritable.)

CHAPITRE II.

La formation de l'embryon didermique et de la cavité amniotique primaire.

Fig. 50. — Murin n° 47, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste se présente sur 24 coupes successives, dont la 15e a été dessinée ; le bouton central se poursuit, lui, sur l'étendue de 14 coupes.

Le blastocyste est légèrement déformé et aplati ; aussi le lécithocèle est-il virtuel dans la partie moyenne de son étendue.

La couche enveloppante est délimitée par une ligne nette de la surface de l'amas central, qui s'étale un peu sous elle. Dans l'hémisphère anti-embryonnaire, cette couche est épaisse ; le protoplasme des cellules contient de nombreux corpuscules colorés en rouge vif et qui sont des débris phagocytés de l'épithélium utérin. Quelques corpuscules semblables, mais beaucoup plus rares, se rencontrent aussi dans l'hémisphère embryonnaire ; toutefois leur origine est autre : ils sont formés sur place par nécrose karyolytique de certaines cellules de la couche enveloppante elle-même. Nous savons que de semblables nécroses se produisent en toutes régions et à tous stades.

L'amas ou le bouton cellulaire central commence à montrer des traces de différenciations : sur toute sa surface convexe, limitant le lécithocèle, une couche de cellules affecte un aspect spécial ; elles s'allongent, leur noyau prend une forme ovalaire, leur cytoplasme a souvent un aspect un peu plus sombre. Par ces caractères, elles tranchent sur le reste de l'amas qui est formé de cellules irrégulières, moulées les unes sur les autres.

Un détail, visible à droite de la figure 50, et mieux encore dans la figure 51, indique clairement l'origine réelle de la couche nouvelle qui tend à se former. On voit, en effet, quelques cellules s'engager dans la cavité blastodermique ; elles sont les derniers vestiges, dans ces œufs, des travées qui découpaient

cette cavité aux stades plus jeunes. En comparant la série des dernières figures décrites, on conclut inévitablement que les cellules qui s'étalent sur la convexité de l'amas central sont celles qui ont joué un rôle actif dans la formation de la cavité blastodermique et du liquide qu'elle contient.

En résumé, l'amas cellulaire central des jeunes stades s'est maintenant subdivisé et a donné les éléments suivants : un lécithocèle, une couche lécithophorale différenciée et un bouton composé de cellules, qui reste interposé entre la couche enveloppante et la couche lécithophorale. Nous l'appellerons, en raison de sa destinée : *bouton embryonnaire.* (Voir la note de 1899, où tous ces faits sont clairement décrits.)

Dans le blastocyste que nous venons de décrire, la couche lécithophorale s'étend exclusivement sur la surface convexe du bouton embryonnaire ; elle est cependant légèrement épaissie au niveau de son pourtour marginal.

Fig. 51. — Murin, n° 35, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste, déformé et aplati, s'étend sur 22 coupes, dont la 10me a été dessinée ; le bouton embryonnaire occupe 11 coupes, dont la figure est la 6me.

La distinction dans le blastocyste, d'un hémisphère embryonnaire et d'un hémisphère antiembryonnaire ou papillifère (Cf. la note de 1899) est devenue indispensable à la clarté de la description.

Examinons d'abord la couche enveloppante : dans l'hémisphère antiembryonnaire, elle est assez épaisse, formée de grosses cellules cubiques ; ces cellules ont phagocyté des débris de l'épithélium utérin, que l'on retrouve dans leur corps protoplasmique sous forme de corpuscules vivement colorés. On peut vraiment, sur les préparations, assister à toutes les phases de ce processus, car dans cette région, l'épithélium utérin est en pleine désintégration.

Dans l'hémisphère embryonnaire, la couche enveloppante reste formée d'un bel épithélium cubique. Appliquée d'une part sur le bouton embryonnaire qu'elle ne fait que tapisser, elle se met

en rapport, d'autre part, avec une mince lamelle, parsemée de noyaux en bâtonnets, presque homogènes et vivement colorés. Cette lamelle résulte de la transformation, dans cette région, de l'épithélium utérin ; il n'en reste rien d'autre. Entre elle et le derme de la muqueuse, on remarque sur la figure une bande assez épaisse, formée d'un coagulum coloré en jaune verdâtre.

Enfin, au niveau de l'équateur, la couche enveloppante est un peu amincie.

La couche lécithophorale est beaucoup plus distincte que dans la figure précédente. Ses cellules, cubiques ou un peu aplaties, se détachent en sombre sur le bouton embryonnaire qui reste clair et formé de cellules groupées en amas compact.

De la couche lécithophorale partent quelques travées qui s'engagent dans le lécithocèle et dont nous avons donné la signification en décrivant le blastocyste précédent.

Fig. 52. — Murin, nº 27, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Ce blastocyste médiocre, est fortement rétracté par l'action des réactifs. Il ne retient l'attention que par un seul détail : de nombreuses travées partent de la couche lécithophorale pour s'engager dans la cavité blastodermique. Toutefois l'étude de la série des coupes tend à faire croire que cette disposition est surtout due à des décollements localisés et produits artificiellement.

Fig. 53. — Murin, nº 8, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Ce blastocyste est fort beau; il s'étend sur 24 coupes, dont la 12e a été figurée. A remarquer que la couche enveloppante, dans la région où elle tapisse le bouton embryonnaire, est formée de cellules un peu aplaties, à noyaux fortement colorés; en revanche, à l'équateur, elle est épaissie, comme si elle s'était rétractée en direction centrifuge.

Le bouton embryonnaire est largement étalé ; il est toujours formé de cellules polyédriques claires, à grands noyaux. Sa face tournée vers la cavité blastodermique est plane, et revêtue d'une couche lécithophorale régulière, formée de cellules cubiques un peu surbaissées. Cette couche commence à s'étaler,

à dépasser le pourtour du bouton embryonnaire et à s'étendre, en dehors de lui, sur la face profonde de la couche enveloppante.

Fig. 54. — Murin, nº 37, 1891. Chlorure de platine, carmin boracique.

Ce blastocyste est fortement rétracté; il se présente sur 28 coupes, dont la 15me a été dessinée; le bouton embryonnaire occupe 19 coupes et c'est la 11me qui est reproduite dans le dessin.

Cette figure est destinée à montrer l'accolement de la couche enveloppante à l'épithélium utérin aminci en une lamelle homogène parsemée de noyaux allongés en bâtonnets et d'aspect pycnotique. La coupe montre en effet très bien, qu'à la limite de l'hémisphère embryonnaire du blastocyste, cette lamelle se continue, par transitions assez brusques, dans l'épithélium utérin normal. Entre elle et le derme de la muqueuse, nous retrouvons la traînée de liquide coagulé que nous avons déjà observée précédemment. Cette préparation est d'une remarquable netteté et fort importante au point de vue de la destinée de l'épithélium utérin et du rôle de la couche enveloppante dans le développement du placenta. Ici, l'épithélium est presque disparu et cela par un processus tout différent de la nécrose pure et simple qu'il subit en regard de l'hémisphère antiembryonnaire. Ces faits ont déjà été signalés dans la note préliminaire de 1899.

En ce qui concerne la couche lécithophorale, il suffit de parcourir la série des coupes du blastocyste, pour constater que le long tractus qui subdivise la cavité blastodermique est dû à un décollement suivi de plissement, produit artificiellement par l'action des réactifs.

Fig. 55. — Murin, nº 17, 1888. Acide nitrique, carmin boracique.

Le blastocyste, très aplati, existe sur 18 coupes : le dessin en représente la 6me ; toutefois, certains détails ont été pris dans la 7me.

Le reste de l'épithélium utérin et la couche enveloppante ont les mêmes caractères que dans les œufs précédents. Le bouton embryonnaire, nettement biconvexe, est à peine plus clair que les feuillets cellulaires qui l'entourent.

La couche lécithophorale est plus intéressante. A la surface du bouton embryonnaire, elle est formée de cellules allongées ; au pourtour du bouton, elle s'épaissit en remplissant l'angle qu'il forme avec la couche enveloppante, puis se prolonge à la face profonde de cette dernière, en s'amincissant de nouveau, pour se terminer un peu au dessus de l'équateur.

La comparaison des figures 53 et 55 porte à faire admettre que l'extension de la couche lécithophorale est moins due à une prolifération cellulaire qu'à une émigration excentrique des premiers éléments formés.

Dans l'hémisphère antiembryonnaire, les cellules de la couche enveloppante renferment de nombreux débris de l'épithélium utérin, qui ont été phagocytés.

Fig. 56. — Murin, n° 22, 1891. Sublimé, carmin boracique.

La coupe dessinée est la 17me de la série qui en comporte 29, et la 7me du bouton embryonnaire qui se présente sur 13 d'entre elles. Ce bouton a son aspect habituel, et ne nous arrêtera pas ; dans la série de ces blastocystes les mitoses sont assez rares.

Un seul point mérite d'être signalé à propos de la couche enveloppante. Là où elle tapisse la surface du bouton, en le séparant de la muqueuse utérine, ses cellules, tout en restant bien distinctes, s'aplatissent jusqu'à devenir pavimenteuses. Nous ignorons l'importance qu'il faut attacher à ce détail ; nous inclinons même à croire qu'il est sans signification réelle. En effet, la figure 55 qui provient d'un blastocyste plus jeune que celui-ci, ne le montre pas, mais par contre il est très bien indiqué dans la figure 53, qui représente un stade encore moins avancé. En tous cas, si cette disposition est normale, elle est sujette à des variations individuelles.

L'étude de la couche lécithophorale nous arrêtera quelque peu. Son étalement en direction excentrique a légèrement progressé et elle tapisse la face profonde de la couche envelop-

pante, dans presque tout l'hémisphère embryonnaire. En outre, dans la partie gauche du bouton embryonnaire, elle est formée d'une couche de cellules très aplaties ; en dehors, sous la couche enveloppante, ces cellules s'épaississent un peu, mais elles le font davantage encore vers l'extrémité droite du bouton où les cellules redeviennent presques cubiques.

Cette disposition n'est pas spéciale à la coupe figurée ; elle se retrouve aussi sur les précédentes et les suivantes, et il en ressort une conséquence importante : *la différence d'épaisseur de la couche lécithophorale dans les deux moitiés du bouton embryonnaire, imprime à cette partie du blastocyste une symétrie bilatérale dont le plan coïncide avec l'axe longitudinal de l'utérus.*

La suite de la description montrera s'il s'agit là d'une règle générale ou d'une apparence fortuite.

Fig. 57. — Murin, n° 49. Chlorure de platine (Liquide Hermann ?) Carmin boracique.

Le blastocyste est très aplati. La coupe figurée est la 16e du blastocyste qui en compte 31, et la 6me du bouton embryonnaire qui en compte 10.

La description peut être brève : la lamelle homogène parsemée de noyaux en pycnose, qui représente le dernier vestige de l'épithélium utérin dans la région embryonnaire, se fragmente, se décolle et tombe ; la couche enveloppante, à la surface du bouton embryonnaire, est légèrement amincie, mais toujours formée de cellules cubiques. Dans l'hémisphère antiembryonnaire, l'aspect papillifère se caractérise par la formation de bourgeons aux dépens des cellules de la couche enveloppante, qui phagocytent activement les débris de l'épithélium utérin.

Le bouton embryonnaire est très net, arrondi, compact, constitué comme dans les autres blastocystes.

La couche lécithophorale s'est étendue, sous forme d'une lame de cellules aplaties, sur la face profonde de la couche enveloppante et en revêt maintenant tout l'hémisphère antiembryonnaire.

On ne constate pas, dans la région du bouton embryonnaire,

les différences d'épaisseur de la couche lécithophérale que nous avons signalées à propos de la figure précédente ; on ne les observe pas davantage dans les coupes précédentes et suivantes. Mais il faut noter que le blastocyste a été complètement aplati par la rétraction due aux réactifs employés ; la compression qui en est résultée a dû écraser la couche lécithophorale entre le bouton et le pôle antiembryonnaire de l'œuf.

Fig. 58. — Murin, nº 19, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste se présente sur 24 coupes, dont la 15me a été dessinée ; quant au bouton embryonnaire, il existe sur 14 coupes, la figure le représente à peu près en son milieu.

L'hémisphère papillifère n'offre aucun détail nouveau méritant une description.

L'hémisphère embryonnaire est plus intéressant. De chaque côté du bouton embryonnaire, la couche enveloppante est encore formée de hautes cellules cubiques ou cylindriques. Mais en dedans, il s'amincit et, sur la coupe figurée, il est même interrompu au niveau du pôle. Nous nous bornons à rapprocher cette disposition de celle que nous avons vue dans d'autres blastocystes. Toutefois, quand on examine toute la série des coupes, on en arrive à se demander si cette assise de cellules plates et sombres ne résulte pas d'un dédoublement de la couche enveloppante en deux lames, dont la plus profonde se confondrait avec les éléments voisins du bouton embryonnaire.

Certaines images plaident en faveur de cette manière de voir, mais nous n'osons pas nous prononcer catégoriquement.

Dans le bouton embryonnaire se trouve une petite cavité, bien délimitée de toutes parts. Elle n'existe que sur la coupe figurée, et représente le tout premier début de la cavité amniolique primaire.

Enfin, certains détails de la couche lécithophorale retiendront encore notre attention. Ils rappellent complètement ce que nous avons décrit dans la figure 56. Partout où elle tapisse la face profonde de la couche enveloppante, elle est formée de cellules

aplaties, presque lamellaires. Mais si l'on examine la surface convexe du bouton, on voit que si dans sa moitié gauche (sur la figure 58), la couche lécithophorale reste mince, elle s'épaissit au contraire dans la moitié droite; là les cellules sont plus nombreuses et presque cubiques. La région embryonnaire de ce blastocyste est donc symétrique bilatérale; c'est le second cas de ce genre figuré dans les planches.

Fig. 59. — Murin n° 24, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique. La coupe figurée est la 18me du blastocyste qui en compte 31-32 ; elle est la 8me du bouton embryonnaire qui en compte 12. Le blastocyste est très plissé, et nous ne ferons, à son sujet, que quelques brèves remarques. Bien qu'il soit manifestement plus âgé que le précédent, la couche enveloppante est restée bien distincte dans toute son étendue et est à peine amincie dans la région du bouton. Excentriquement placée dans ce dernier, on remarque une petite cavité, bien délimitée, vers la gauche, par des cellules cylindriques. Il s'agit encore ici d'un premier rudiment de la cavité amniotique primaire.

Enfin pour la troisième fois, nous constatons à la face profonde du bouton embryonnaire, des différences nettes dans l'épaisseur de la couche lécithophérale : dans les $^2/_3$ droits les cellules sont rares et aplaties, elles sont plus nombreuses et plus épaisses dans le $^1/_3$ gauche. Ce blastocyste est donc, lui aussi à symétrie bilatérale.

Fig. 60. — Murin n° 19, 1891. Sublimé, carmin boracique. Le blastocyste se présente sur 50 coupes, dont la 30me a été figurée ; d'autre part le dessin est la 10e coupe du bouton embryonnaire, qui en comporte 24. L'hémisphère antiembryonnaire ne présentant plus d'intérêt pour la suite de ce travail, on n'a représenté que la région embryonnaire.

Pour ne pas avoir à y revenir, nous dirons un mot de la couche lécithophorale. Dans toute l'étendue du bouton embryonnaire, elle est décollée et plonge librement dans la cavité blastodermique.

Dans la coupe figurée, elle est formée de cellules nombreuses et cubiques, surtout vers la droite ; dans d'autres coupes elle est exclusivement formée de cellules aplaties. Des différences d'épaisseur existent donc certainement, mais en raison du décollement qui s'est produit, il est impossible de déterminer exactement la topographie des cellules cubiques et des cellules plates. L'embryon est très probablement à symétrie bilatérale, mais nous n'oserions l'affirmer.

Le bouton embryonnaire est creusé de cavités irrégulières dont certaines communiquent entre elles, tandis que d'autres restent partout séparées par des ponts cellulaires.

En ce qui concerne la couche enveloppante, le dessin indique clairement qu'elle s'est subdivisée en deux feuillets ; l'un superficiel, en rapport avec le derme utérin complètement dénudé, est formé d'une rangée assez régulière de cellules allongées qui, sur d'autres objets, se détachent nettement grâce à une vive coloration des noyaux, et à un aspect plus foncé du protoplasme. L'autre, profond, reste constitué de cellules cubiques ; il persiste sous forme de couche enveloppante proprement dite et, dans la figure 60, forme la voûte des deux cavités principales creusées dans le bouton embryonnaire.

Il résulte de l'exposé fait dans la note préliminaire de 1899 et dans d'autres travaux, que cette subdivision en deux de la couche enveloppante est en rapport intime avec la formation du placenta fœtal et est le prélude de sa transformation en un plasmodiblaste et un cytoblaste (Ed. Van Beneden).

Fig. 61, 62, 63 et 64. — Nous réunirons dans une même description ces 4 figures qui ont été reproduites, dans la note de 1899, sous les numéros 12, 14, 13 et 15. Elles ont toutes pour but de montrer la formation de l'ectoplacenta et de la cavité amniotique primaire. Les processus qui accompagnent cette formation ont été très clairement exposés dans les pages 321 à 327 de la note précitée et nous n'y revenons ici que pour éviter des lacunes dans la description.

(J'ai d'autant plus de raisons d'être bref que je n'ai pu disposer des dessins originaux, mais seulement des épreuves

des figures publiées dans l'Anat. Anz. Ils ne contenaient aucune indication sur le numéro d'ordre des blastocystes dont ils provenaient et je n'ai retrouvé que partiellement dans le matériel mis à ma disposition, les préparations qui avaient été reproduites. Je me bornerai donc à décrire les dessins qui sont fort clairs et qui ont visiblement été choisis dans un but déterminé.

En ce qui concerne la couche lécithophorale, la fig. 61 démontre bien que sous le bouton embryonnaire, elle est formée de cellules cubiques dans la moitié gauche, de cellules plates dans la moitié droite. La symétrie bilatérale est donc aussi nette que dans les autres cas identiques que nous avons observés jusqu'ici.

Dans les figures 62, 63 et 64, ces différences ne se marquent pas, mais il n'en faut pas conclure qu'elles n'auraient pas été reconnues si l'on avait pu suivre toute la série des coupes. Le fait qu'elles font défaut dans les dessins en question est peut-être dû à l'orientation des coupes et au choix qui a été fait.

Dans le matériel d'Ed. Van Beneden, j'ai d'ailleurs trouvé plusieurs blastocystes aux stades que nous avons étudiés jusqu'ici, et auxquels la disposition du lécithophore donnait une symétrie bilatérale évidente ; il fallait parfois, pour s'en rendre compte, reconstituer la région embryonnaire. Sur d'autres, je n'en ai relevé que des indices beaucoup moins nets, mais jamais ils ne faisaient complètement défaut.)

Dans les figures 61 et 62, la subdivision en deux de la couche enveloppante, dans l'hémisphère embryonnaire, apparaît avec une grande netteté. Dans la 2de notamment, certaines cellules sortent de la couche profonde pour venir s'étaler à la surface ; l'épithelium simple des stades antérieurs se dédouble beaucoup plus semble-t-il, par la plasticité ou l'amœboïsme des cellules que par des divisions mitosiques spécialement orientées. Dès qu'une cellule est devenue superficielle, elle s'allonge comme pour s'anastomoser avec ses voisines. Dans la fig. 61, le processus est le même, bien qu'en général moins avancé ; cependant vers la gauche du bouton embryonnaire, un léger décollement qui s'est produit rend l'image plus nette.

Dans la fig 63, le dédoublement paraît achevé sauf au centre du bouton embryonnaire, sur lequel nous reviendrons un peu plus loin. La couche externe à laquelle nous pouvons déjà donner le nom de plasmodiblaste (Ed. Van Beneden) est encore constituée de cellules relativement minces, à noyaux allongés, très riches en chromatine, et se colorant fortement ; elle se détache avec la plus grande facilité du cytoblaste (Ed. Van Beneden) qui lui est sous-jacent. Ce fait indique que la différenciation des deux couches s'accomplit fort rapidement, et que très tôt aussi elles deviennent indépendantes.

Enfin dans la fig. 64, le plasmodiblaste a pris sa structure définitive. Il est formé d'une lame protoplasmique sombre, dans laquelle toutes les limites cellulaires sont confondues, et qui est parsemée de noyaux très chromatiques disposés sans ordre régulier. La comparaison des figures 61 à 64 ne peut laisser aucun doute sur son origine et sur la nature des processus qui ont abouti à sa formation.

Le creusement de la cavité amniotique primaire a été très clairement décrit en 1899, et il n'y a guère lieu d'y revenir, si ce n'est pour insister sur un point : déjà dans la figure 61, le cytoblaste, au dessus du bouton embryonnaire, est devenu indistinct et paraît s'être confondu avec les éléments les plus superficiels du bouton ; il contribue donc, comme eux, à délimiter la voûte des cavités irrégulières qui formeront par confluence la cavité amniotique vraie. (Voir fig. 62 et 60). Il est probable que certaines de ses cellules constitutives continuent à se transformer en plasmodiblaste ; c'est du moins ce qu'indique la figure 64 ; mais il est très vraisemblable aussi qu'un certain nombre d'entre elles sont incorporées à la masse irrégulière de cellules disloquées, souvent en voie de dégénérescence, qui remplit l'ébauche de la cavité amniotique. En tous cas, ce qui est certain, c'est que l'on peut positivement exclure toute participation du cytoblaste à l'édification de la couche d'épithélium cylindrique qui, déjà dans la figure 64, forme le plancher, concave, de la cavité amniotique.

Nous savons que cette couche n'est autre que le feuillet externe de l'embryon didermique (blastophore Ed. Van Beneden.

Voir spécialement la note de 1899) ; les figures démontrent qu'il provient des cellules profondes du bouton embryonnaire, mais la question est assez importante pour justifier une brève description.

Sur la fig. 61, déjà avant toute apparition de la cavité amniotique, les cellules qui délimitent la surface convexe du bouton et qui sont en rapport avec la couche lécithophorale, commencent à se ranger en un épithélium cylindrique. Plus tard (fig. 64), quand les travées qui séparent les lacunes amniotiques se disloquent et se désagrègent, le bouton embryonnaire s'étale, s'allonge, devient de moins en moins convexe et le fond de la cavité amniotique se trouve constitué d'un véritable feuillet épithélial régulièrement délimité. Dès ce moment l'embryon didermique est formé, et son feuillet externe est définitivement constitué.

De la description qui précède et de l'examen des figures sur lesquelles elle est basée, il résulte que nous connaissons maintenant avec toute la certitude nécessaire : 1°) l'origine du plasmodiblaste et du cytoblaste, c'est-à-dire des constituants essentiels de l'ectoplacenta ; 2°) le mode de creusement de la cavité amniotique primaire ; 3°) l'origine du feuillet externe de l'embryon didermique dont la couche lécithophorale forme le feuillet interne.

Nous terminerons par la description de 4 derniers stades, dont des coupes sont représentées dans les figures 65, 66, 67, 68.

Fig. 65. — Murin, n° 26, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste s'étend sur 60 coupes environ ; le dessin en montre la 29me. La cavité amniotique occupe 35 coupes ; elle est donc devenue très vaste. Le pont cellulaire qui, partant de sa voûte, la divise presque complètement en deux parties, n'existe en réalité que sur 2 ou 3 coupes.

Le présence de ce pont n'est cependant pas sans intérêt : non seulement parce qu'il indique encore le mode de formation de la cavité amniotique, mais encore et surtout parceque la

large connexion qu'il présente avec la couche plasmodiblastique tend à démontrer qu'il va se confondre avec elle pour en faire partie intégrante ; tout porte à croire qu'il est un reste du cytoblaste de la couche enveloppante, qui, après la formation de la cavité amniotique, rentre dans la constitution de l'ectoplacenta.

Quant au plasmodiblaste, il est dans toute son étendue accolé au derme utérin ; dans la région amniotique, il forme la voûte immédiate de cette cavité; dans le reste de son étendue, il s'applique lâchement sur le cytoblaste de la portion extraembryonnaire du blastocyste.

Le plancher de la cavité amniotique est formé par le feuillet externe de l'embryon (blastophore Van Beneden). C'est un bel épithélium cylindrique dont les noyaux sont disposés en 2 ou 3 couches ; quelques irrégularités se remarquent encore à sa face supérieure. Marginalement, il se continue dans le cytoblaste ; cette continuité s'est établie et devait s'établir au moment où, la cavité amniotique s'étant creusée, sa voûte est devenue exclusivement plasmodiblastique par le processus que nous avons indiqué. (Cf. aussi la note de 1899.)

Il nous reste, pour en finir avec ce stade, à dire un mot de la couche lécithophorale. L'examen de la figure montre que les cellules de cette couche sont un peu plus épaisses dans la région embryonnaire que dans le reste du blastocyste où elles sont fort aplaties. Mais, si l'on étudie la série des coupes, on observe, sous le plancher de la cavité amniotique, les dispositions suivantes : dans les coupes qui précèdent celle qui a été reproduite, la couche lécithophorale s'épaissit plus encore et se constitue de cellules cubiques nombreuses et volumineuses; cette disposition est surtout évidente dans les $^2/_3$ droits des coupes. Au contraire dans les coupes qui suivent la fig. 65, les cellules lécithophorales s'amincissent de plus en plus, d'abord à gauche, puis dans toute l'étendue de la zone embryonnaire; elles prennent rapidement la forme pavimenteuse qu'elles ont dans les portions extra embryonnaires du blastocyste.

Il résulte de cette description qu'une moitié de la couche externe de l'embryon est revêtue d'une couche lécithophorale

épaisse, tandis que l'autre n'est tapissée que de cellules plates. Cette disposition imprime à l'embryon didermique une symétrie bilatérale que nous avons déjà constatée à d'autres stades, mais qu'il est plus difficile de reconnaître ici, à cause de l'orientation très oblique des coupes.

Dans la fig. 66 qui représente un stade un peu plus avancé que celui que nous décrivons, la disposition réelle de la couche lécithophorale est mieux visible, parce que le plan de section du blastocyste coïncide avec le plan de symétrie bilatérale ou lui est parallèle.

Fig. 66. — Murin 11, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

La cavité amniotique et son plancher, que nous appellerons le " disque embryonnaire „ s'étendent sur 37 coupes, dont la 19me est reproduite dans le dessin.

Tant à la voûte de la cavité amniotique qu'à sa périphérie, on voit le plasmodiblaste envahir le derme utérin, se mettre au contact de l'endothélium des vaisseaux maternels et commencer à les entourer.

Le plasmodiblaste a ses caractères définitifs : c'est une nappe protoplasmique dans laquelle sont plongés des noyaux volumineux, parfois isolés, parfois groupés en amas. En dehors de la cavité amniotique, cette nappe repose sur le cytoblaste dont les caractères ne se sont pas modifiés ; tandis qu'au niveau de la cavité même, toute trace de cytoblaste a complètement disparu.

Le feuillet externe de l'embryon didermique a conservé la situation et les rapports qu'il avait au stade précédent ; il est épais, bien régulier, et tout à fait plan, c'est-à-dire qu'il ne bombe plus dans la cavité blastodermique. Toutes les étapes de ce redressement sont admirablement indiquées dans la série des figures ; elles ont d'ailleurs été décrites dans la note préliminaire de 1899.

Nous avons déjà dit un mot plus haut de la couche lécithophorale : dans la moitié gauche du disque embryonnaire elle est formée de cellules cylindriques ; vers la droite, ces cellules

s'abaissent progressivement pour devenir cubiques, puis aplaties. Cette disposition existe sur quelques coupes antérieures et postérieures à celle qui a été dessinée. Partout en dehors de l'embryon proprement dit, les cellules lécytophorales sont plates. La symétrie bilatérale du disque embryonnaire est donc évidente et les coupes sont parallèles à son plan médian.

Fig. 67. — Murin, nº 64, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le disque embryonnaire occupe 55 coupes, dont la 29e a été dessinée. Cette figure est reproduite dans la note de 1899, sous le nº 16, page 325.

La cavité amniotique, agrandie, a la délimitation qu'elle avait au stade précédent ; le plasmodiblaste est épaissi à sa voûte et entoure partiellement de nombreux capillaires maternels ; il en est de même d'ailleurs dans les parties périphériques du blastocyste.

Sur la coupe figurée, la couche lécithophorale est manifestement plus épaisse à droite qu'à gauche et cette différence est plus accusée encore sur les coupes précédentes. Dans la partie gauche du dessin, entre les deux feuillets primaires, existe une traînée de cellules fusiformes. Elle procède du bord de la ligne primitive qui apparaît à l'état d'ébauche très nette, coupée sagittalement sur les coupes qui précèdent.

Le mode de formation de la ligne primitive ne nous arrêtera pas parce qu'il sera décrit en détail dans un autre travail qui fera suite à celui-ci. Nous ne voulons pour le moment retenir qu'un fait, c'est qu'elle prend naissance dans la moitié du disque embryonnaire qui est caractérisée, à des stades encore très reculés, par une grande minceur de la couche lécithophorale.

De plus, son axe longitudinal est dans le plan de symétrie bilatérale que les différences d'épaisseur de cette couche avaient permis d'assigner aux jeunes blastocystes. L'embryon suivant donnera de ce fait une démonstration éclatante.

Fig. 68. — Murin, nº 15, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Le disque embryonnaire existe sur 48 coupes, dont la 28e a été dessinée.

L'ectoplacenta a déjà pris un grand développement et entoure de toutes parts de nombreux vaisseaux maternels.

Un simple coup d'œil permet de reconnaître que la figure représente la coupe sagittale d'un embryon au moment où la ligne primitive commence à former son prolongement céphalique. Sa description sortirait du cadre de ce travail. Remarquons seulement que l'extrémité du prolongement céphalique s'arrête au point où la couche lécithophorale commence à s'épaissir. Nous savons dès maintenant que cette région correspond à l'extrémité craniale de l'embryon ; il sera démontré dans un prochain travail qu'elle interviendra dans la constitution d'une partie de la paroi du pharynx.

*
* *

Les conclusions qui se dégagent de la longue description qui précède ont été formulées à la page 328 de la note de 1899. Nous ne pouvons mieux faire que de les reproduire ici :

Il résulte de tout ce qui précède :

1) Que les deux couches cellulaires qui interviennent dans l'édification de l'embryon proprement dit procèdent, l'une et l'autre, de la masse interne de l'œuf segmenté ;

2) Que cet amas interne se différencie secondairement en un lécithophore et un bouton embryonnaire ;

3) Que dans le bouton embryonnaire se creuse une cavité qui n'est autre que la cavité amniotique ;

4) Qu'au moment de l'apparition de cette cavité, le bouton affecte une forme globuleuse ; que la partie du bouton qui est destinée à devenir la couche externe de la tache embryonnaire didermique, est fortement incurvée ; que cette incurvation de l'embryon tend à s'effacer peu à peu : la tache embryonnaire tend à devenir plane et la cavité amniotique à prendre l'apparence d'une fente ;

5) Que la couche enveloppante, complète et indépendante de l'amas interne dès le début de la formation du blastocyste,

fournit tout l'ectoplacenta, y compris la voûte de la cavité amniotique;

6) Que cette couche se dédouble en deux assises : plasmodiblaste et cytoblaste, dans toute l'étendue de l'hémisphère embryonnaire du blastocyste;

7) Que le cytoblaste disparaît à la voûte de la cavité amniotique chez le Murin, le plasmodiblaste persistant seul dans cette région, tandis que chez le petit fer à cheval, les deux assises se maintiennent indéfiniment.

8) Que la couche externe de l'embryon didermique, primitivement indépendante de la couche enveloppante, se met en continuité avec cette couche sur tout le pourtour de la tache embryonnaire, en même temps que l'embryon, primitivement incurvé et en quelque sorte invaginé dans la cavité blastodermique, se redresse ;

9) Que l'épithelium utérin disparait sans laisser de traces, au contact de l'hémisphère embryonnaire, et n'intervient en rien dans l'édification du placenta. Celui-ci débute par la vascularisation du plasmodiblaste, dont l'épaisseur croît rapidement.

(Dans sa note de 1899, Ed. Van Beneden faisait suivre cette énumération d'un chapitre intitulé : " Interprétation des faits „ dans lequel il émettait de façon succincte, mais très claire, des considérations fort intéressantes sur la signification morphologique des observations qui viennent d'être décrites.

Leur reproduction pure et simple dans ce travail, n'eut pas été fort utile, puisque l'Anatomischer Anzeiger se trouve dans toutes les mains. Pour faire une œuvre complète, il eut été nécessaire de les développer davantage et surtout d'entrer dans la discussion d'un certain nombre de travaux importants qui, depuis 1899, ont paru sur des sujets analogues.

Personnellement, j'ai l'absolue conviction que toutes les conclusions et interprétations d'Ed. Van Beneden restent intactes, mais j'outrepasserais mes droits en me substituant à lui, même pour défendre ses idées et montrer qu'elles ont subi victorieusement l'épreuve du temps.

Le présent travail étant une œuvre posthume de Van Beneden, ne peut contenir que ce qui découle des préparations qu'il a étudiées, c'est à dire les conclusions de *faits* qui se dégagent de ses recherches

A toutes celles qu'il a formulées en 1899 et qui sont de première importance, il convient, je crois, d'en ajouter une dont la portée ne me parait pas moindre. On peut l'exprimer comme suit :

10) Peu après que la couche lécithophorale s'est délimitée, avant qu'elle n'ait tapissé l'hémisphère antiembryonnaire du blastocyste, ce dernier a une constitution symétrique bilatérale. Elle est caractérisée par le fait que l'épaisseur de la couche lécithophorale est notablement plus grande dans une moitié du bouton embryonnaire que dans l'autre. L'étude de la série des stades démontre que la ligne primitive prend naissance aux dépens du feuillet externe de l'embryon didermique, dans la partie du disque embryonnaire où le feuillet interne (lécithophoral) est formé de cellules plates. Dès lors on peut affirmer que la partie opposée, à couche lécithophorale épaisse, donnera naissance à l'extrémité craniale du corps, probablement à la région préchordale, sans qu'il soit possible, pour le moment, de préciser davantage ce qu'il faut entendre par là.

Nous avons dit, à la fin du chapitre I, que l'œuf de Murin, aux premiers stades de la segmentation, se comportait comme si sa constitution intime était à symétrie bilatérale. Celle-ci se maintient-elle pendant tout le cours du développement ? Persiste-t-elle, bien qu'invisible à nos yeux, pendant tous les stades de la segmentation pour reparaître nettement distincte aux phases qui précèdent l'apparition de la ligne primitive ? En d'autres termes, le plan de symétrie bilatérale de l'embryon est-il le même que celui de l'œuf qui commence à se segmenter ? Nous l'ignorons et il est probable que nous n'en saurons pas plus, tant que l'expérimentation ne pourra porter sur l'œuf des mammifères. Si nous étions autorisé à raisonner par analogie, nous n'hésiterions pas à répondre par l'affirmative, nous basant sur de nombreuses observations faites chez les Ascidies (Ed. Van Beneden et C. Julin, Conklin), chez les Amphibiens et

même chez les Téléosteens et chez les Oiseaux ; mais pour le moment, nous croyons préférable de rester sur la réserve.

La question de la symétrie bilatérale de l'œuf et de son importance a longuement préoccupé Ed. Van Beneden. Si dans sa note de 1899, il n'a pas fait allusion aux faits dont nous venons de parler, c'est qu'il conservait des doutes ; avec le scrupule scientifique qui le caractérisait, il ne voulait pas faire abstraction de la longue série de stades pendant laquelle fait défaut chez le Murin cette régularité dans le développement qui devrait exister, semble-t-il, si l'œuf en segmentation avait encore la symétrie primaire de l'œuf fécondé.

A maintes reprises, dans des conversations que nous eûmes ensemble sur les localisations germinales, sur les rapports entre la composition de l'œuf et la constitution de l'embryon qui en provient, je l'ai entendu insister sur les grandes difficultés que présente la solution de ces problèmes, et sur la prudence qu'il faut apporter dans l'interprétation des faits.

Néanmoins, et sans répondre dans un sens positif à la question posée plus haut, il ne ressort pas moins nettement des recherches d'Ed. Van Beneden que l'on peut reculer très loin, chez le Murin, l'apparition de la symétrie bilatérale de l'embryon, que longtemps avant que la formation de la ligne primitive ne lui imprime ses caractères définitifs, elle existe dans les jeunes blastocystes, qu'elle devient apparente dès que la couche lécithophorale s'est délimitée et commence à s'étaler sur la surface profonde de la couche enveloppante.

C'est là un fait à coup sûr important et fructueux au point de vue des recherches futures.

A Ed. Van Beneden revient donc le mérite d'avoir reconnu la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé, de l'œuf segmenté en 2, en 4, en 8, et des jeunes blastocystes. Si dans l'avenir on parvient à la poursuivre chez les mammifères à travers tous les stades, encore confus, de la segmentation et à établir le pont qui manque encore, ce sera ici, comme dans tant d'autres questions, notre grand compatriote qui aura ouvert la voie et indiqué le chemin.

Mais si dans cette confrontation des faits, dans la position du problème et dans l'indication de la marche à suivre pour le résoudre, il y a des erreurs dont les recherches ultérieures feront justice, moi seul devrai en supporter la responsabilité.)

Observations et Expériences relatives à l'action exercée par des extraits d'œufs et d'autres substances sur les Spermatozoïdes

PAR

J. DE MEYER

Assistant à l'Institut Solvay (Physiologie)

(*Université de Bruxelles*)

(Planches VI et VII)

J'ai entrepris le travail dont je vais rendre compte, pendant un séjour que j'ai fait au laboratoire de Physiologie de la Station zoologique de Naples, en Mars-Avril 1910.

Mon attention avait été attirée sur cette question tout naturellement par les travaux récents des biologistes et, antérieurement déjà, par une idée qu'a émise en 1893 M. Ernest Solvay [1]. On sait quels résultats surprenants ont donné aux biologistes les études concernant l'action exercée par diverses substances sur les cytoplasmes ovulaires, et en particulier sur les œufs d'oursins. Le dernier livre de Loeb (1) expose la question dans toutes son ampleur, et grâce à l'expérience de Delage qui est parvenu à élever des plutei parthénogénétiques jusqu'au stade adulte, il n'est pas douteux que les résultats de ces recherches n'aient dépassé toutes les prévisions.

[1] Dans son travail sur le *Rôle de l'Électricité dans les phénomènes de la vie animale*, M. Solvay a assimilé le germe non fécondé à un milieu de culture, et considéré que le spermatozoïde détermine par hétérogenèse la réaction dans l'ovule. Voir Trav. de Labor. de l'Inst. Solvay, tome I, pp. 41 et suiv.

On sait maintenant que l'excitation au développement de l'œuf n'est pas une chose bien compliquée ; Loeb a démontré à suffisance qu'il suffit pour cela d'une légère action cytolytique exercée sur la couche périphérique du cytoplasme. Mais il est curieux de constater que si des substances essentiellement différentes par leur structure et leurs propriétés chimiques, sont capables d'exercer cette action cytolytique excitatrice de la formation de la membrane ovulaire (acides gras, savons, benzol, chloroforme, amylène, toluol, éther etc.. etc.), il en est cependant une qui reste sans action : c'est précisément la substance complexe qu'on extrait des spermatozoïdes. A priori on devrait admettre que c'est elle qui doit posséder l'action la plus nette et la plus forte sur l'œuf ; mais on sait par les travaux de Loeb (1 fig. 192), Gies (5) et Cremer (4), que les fécondations artificielles au moyen d'extraits spermatiques sont restées sans résultats, ou sont sujettes à caution. En effet, Loeb réfute avec beaucoup de raisons les expériences soi-disant positives obtenues par Piéri (8) ; il n'est pas parvenu à reproduire celles de Winkler (7) et explique les résultats positifs de Kupelwieser (6) par l'action exercée par le liquide spermatique, et non par l'extrait de spermatozoïde proprement dit ([1]).

Il n'en est pas moins vrai qu'on se trouve ici en présence d'un fait paradoxal qui mériterait sans aucun doute d'être soumis à un nouveau contrôle expérimental, mettant en œuvre de meilleures méthodes d'extraction des substances renfermées dans les spermatozoïdes.

Mais il est curieux aussi de constater que si tant de travaux ont été consacrés à l'étude des déterminants du développement ovulaire, il n'en est presque pas qui se soient occupés des facteurs de développement de la cellule homologue de l'œuf, du spermatozoïde.

([1]) On trouvera aussi dans un petit travail de M. J. Massart (30) certains détails concernant la pollination sans fécondation chez les plantes. L'auteur montre que du pollen broyé peut encore parfaitement exciter la croissance des carpelles et des enveloppes ovulaires.

Faut-il absolument que le spermatozoïde pénètre dans l'œuf, ou dans un morceau d'œuf, bref soit mis en contact de cytoplasme ovulaire vivant pour qu'il commence à présenter les premières phases de son évolution normale? Ou bien y a-t-il moyen de provoquer artificiellement l'apparition de ces phases qui précèdent nécessairement, comme on sait, la réunion du noyau spermatique au noyau ovulaire. Telles sont les questions que nous nous proposons d'examiner dans le présent travail.

* * *

Mais avant d'en arriver à nos expériences, nous voudrions exposer brièvement — afin de bien poser le problème expérimental — ce que nous entendons par " les premières phases de développement des spermatozoïdes „. Ces phases n'ont à notre sens, pas suffisamment fixé l'attention des biologistes, quoiqu'elles constituent cependant un stade important dans l'évolution de l'élément mâle.

On sait que le spermatozoïde ne s'accouple pas au noyau de l'œuf dans l'état morphologique où il a été libéré par le testicule et où il a pénétré dans l'œuf. Il subit pendant le laps de temps qui sépare la perforation de la membrane ovulaire, de la conjugaison nucléaire proprement dite, des changements manifestes.

Et si on réserve le terme de „ *maturation* " aux stades correspondant à la réduction chromatique ; de „ *conjugaison* „ aux stades pendant lesquels s'opère l'union intime des éléments chromatiques ; puis le terme trop étendu de „ *fécondation* „ à l'ensemble des stades parcourues par l'œuf, depuis le moment d'entrée du spermatozoïde jusqu'à la fusion des noyaux, on pourrait réserver le terme de „ *préconjugaison* „ au stade bien délimité pendant lequel les spermatozoïdes ainsi que les œufs, transforment leur noyau propre en pronucleus mâle ou femelle.

Dans les œufs ce stade sera très court, puisque la fécondation peut s'opérer dès que les globules polaires sont excrétés. Chez certains d'entre eux même (Nematodes, Gastéropodes, Annélides, Géphyriens, etc.), où la fécondation s'opère pendant l'ex-

crétion des globules, le stade de préconjugaison sera superposé au stade de maturation.

Mais c'est surtout chez les spermatozoïdes que le stade de *préconjugaison* existe le plus nettement et, toutes questions de détails mises à part, on peut distinguer à ce point de vue, deux classes de spermatozoïdes : 1°) ceux qui pénètrent dans des œufs à globules polaires excrétés ; 2°) ceux qui pénètrent avant que les globules n'aient encore été émis.

Au premier groupe appartiennent les spermatozoïdes d'Echinides. Les figures classiques de Wilson (13 et 17), corroborées du reste par toutes les observations de Boveri (31), Doflein (12), Fischel (9), Ries (10 et 11), Field (19), montrent que la tête du spermatozoïde gonfle, puis s'arrondit dans le cytoplasme ovulaire, ainsi que le corpuscule intermédiaire. Le volume de la tête atteint en quelques minutes 4 à 5 fois sa dimension primitive : c'est à cet état que cette tête devenue pronucleus mâle s'applique contre le pronucleus femelle,continue à gonfler et à former une espèce de calotte à l'un des pôles de ce pronucleus.

Field, qui a consacré une étude spéciale aux spermatozoïdes d'Echinoderme, dit notamment : " when te nucleus of the spermatozoïd has passed the outer denser cytoplasmic portion of the ovum, it increases in size, caryolymph and chromosoms appear again. „ L'auteur estime aussi que le spermatozoïde ne peut pas opérer son évolution normale, si le cytoplasme de l'œuf ne lui fournit pas certaines substances spéciales.

Dans ce groupe, par conséquent, le spermatozoïde ne séjourne qu'un temps très court dans le cytoplasme ovulaire, et quoique la tête prenne des proportions considérables, elle n'égale cependant jamais le volume du pronucleus femelle.

Mais il en est tout autrement du *second groupe*. Ici le spermatozoïde attend à l'intérieur de l'œuf que les globules polaires aient été excrétés [il constitue même chez quelques espèces (Annélides) l'excitant de cette excrétion : Loeb 1 pg. 159], et reste donc pendant un temps plus long au contact du cytoplasme ovulaire.

Aussi le spermatozoïde y devient-il méconnaissable. Sa tête gonfle énormément, s'organise en vrai noyau, acquiert des caractères en tout semblables à ceux du pronucleus femelle, et ne s'en distingue plus en rien au moment où la réduction chromatique est achevée. Les deux pronuclei absolument égaux occupent alors le centre de l'œuf. Les figures de Wilson (17) relatives à la fécondation chez Physa, Ascaris, Filaroïdes, Pterotrachea, Nereis, Cyclops strenuus, Thalassema, Myzostoma, et chez d'autres organismes encore, parmi lesquels la Souris, sont absolument convaincantes.

Il n'est donc pas douteux qu'un stade de préconjugaison existe nettement chez les spermatozoïdes, stade caractérisé par des changements morphologiques d'autant plus accusés, que l'élément mâle fait un plus long séjour dans le cytoplasme ovulaire.

La question que nous nous sommes donc posée est la suivante : les changements morphologiques que le spermatozoïde subit dans le cytoplasme ovulaire, sont-ils sous la dépendance exclusive de ce cytoplasme vivant et de la fécondation par conséquent, ou bien peuvent-ils être provoqués artificiellement ?

Tout d'abord un coup d'œil rapide jeté sur les données bibliographiques montre de suite, que la fécondation *normale* n'est pas nécessaire pour que les spermatozoïdes subissent des changements morphologiques qui consistent en un gonflement de la tête, et une sorte de dislocation de la chromatine.

C'est ainsi qu'on constate tout d'abord un fait semblable quand des spermatozoïdes pénètrent dans des morceaux d'œufs sans noyaux. Cela résulte d'expériences déjà anciennes de Morgan (18), de Boveri (31), de Hertwig (24) et d'expériences récentes de Schücking (25) et de von Dungern (26). Morgan signale que les spermatozoïdes se placent souvent au centre du fragment d'œuf. „ Have begun to enlarge, and become surrounded by a clear region of protoplasm. “ L'auteur parle aussi de spermatozoïdes devenus des “clear vesicles„. O. et R. Hertwig signalent que les cellules ♂ parcourent dans des

œufs morcelés, les mêmes stades que dans l'œuf entier, et arrivent même à constituer un sperma amphiaster : les auteurs (24 fig. 227) décrivent spécialement le grossissement des têtes des spermatozoïdes. Schücking écrase des œufs d'*Asterias*, d'*Arbacia*, de *Strongylocentrotus* dans un mortier, et mélange du sperme à cet extrait : il constate que les queues tombent, se dissolvent et que les têtes gonflent. von Dungern était arrivé aux mêmes résultats, et signale que des spermatozoïdes mis dans des œufs broyés additionnés d'eau de mer „ erleiden eine deutliche wahrnehmbare Strukturänderung, indem der lanzenformige Kopf sich volkommen abrundet " Ces deux derniers auteurs n'ont cependant donné aucune figure des spermatozoïdes altérés, et n'ont du reste pas pris d'autre attention aux changements morphologiques survenus dans ces cellules.
Godlewski (15) montre aussi que des spermatozoïdes d'*Antedon* pénétrant dans des œufs d'oursins, y subissent un gonflement très marqué. King (14) par des expériences de polyspermie exécutées dans des œufs d'*Asterias* soumis à des compressions, donne des figures montrant que la tête du spermatozoïde gonfle dès sa pénétration dans l'œuf.

Mais au sujet du gonflement des têtes de spermatozoïdes, il existe une très curieuse observation de Fischel (2 et 3). Cet auteur, en étudiant les colorations intravitales d'œufs (Strongylocentrotus, Echinus), obtenues au moyen de „ Nilblausulfat „, vit que cette matière colorante permet à plusieurs spermatozoïdes de pénétrer à la fois dans l'œuf, et a pour effet de provoquer un gonflement intense de la tête et du mittelstück. Chose curieuse, cet effet n'a lieu que pour autant que les spermatozoïdes aient pénétré dans les œufs, car ils ne présentent pas la même particularité quand ils sont simplement mis au contact du colorant. Chez *Arbacia* l'effet est plus marqué encore : ici le gonflement est démesuré, les spermatozoïdes sont méconnaissables tant les dimensions de la tête et du corpuscule intermédiaire ont pris de grandes dimensions. Leur pénétration dans l'œuf n'est du reste plus indispensable pour que ces phénomènes de gonflement se produisent : cependant on constate que ce sont les spermatozoïdes les plus voisins des œufs qui se sont

gonflés le plus. Et Fischel émet l'hypothèse explicative que les œufs laisseraient diffuser (sous l'action du colorant) une substance capable de faire gonfler les spermatozoïdes.

La fécondation *normale* ne paraît donc pas indispensable d'après ces quelques données bibliographiques, pour que le spermatozoïde puisse présenter les premières phases de son évolution, ce que nous appelons les phases de „ préconjugaison „.

Il était donc intéressant de connaître quelques uns des déterminants de cette première évolution, et d'étudier le sort de ces cellules en présence d'extraits d'œufs, de substances colloïdes, d'acides, d'alcalis, de solutions hypo-et hypertoniques. Tel fut précisément l'objet de ce travail.

MÉTHODE

Nous indiquons ici quelques données relatives à la préparation des extraits d'œufs, à la récolte des spermatozoïdes, à la technique microscopique employée pour l'étude de ces cellules.

Extraits d'œufs. — Des œufs d'*Echinus microtuberculatus* [1] sont récoltés suivant la méthode ordinaire, et mis dans un tube à réactif de façon à ce qu'ils forment au fond du tube une couche de 1,5 à 2 cm. Au dessus, on laisse une couche égale d'eau de mer.

Le tube est vivement secoué pendant dix minutes environ ; on obtient un liquide blanchâtre, visqueux, qu'on centrifuge fortement pendant 30-45 minutes à 3000 tours, jusqu'à ce que le liquide ait abandonné toutes ses particules solides, et soit devenu presque clair.

On filtre alors ce liquide sur filtre dur en s'aidant au besoin d'une trompe à eau.

On obtient de la sorte un extrait d'œufs absolument clair, transparent, visqueux, sans aucun élément morphologique décelable au microscope.

Récolte des spermatozoïdes. — Quelques précautions spéciales doivent êtres prises au sujet de cette opération, car la méthode ordinaire qui consiste à déposer et à triturer un testicule dans un peu d'eau de mer, pouvait donner lieu à des causes d'erreur. En effet, elle ne fournit pas seulement des spermatozoïdes adultes, mais encore toute une série de cellules intermédiaires entre les spermatides et les spermatozoïdes proprement dits. Aussi le meilleur moyen d'obtenir du sperme normal est, à notre sens, le suivant. On gratte soigneusement le pôle supérieur de l'*Echinus* au moyen d'un scalpel, et on

---

(1) Toutes nos expériences furent exclusivement exécutées sur cet Échinide.

lave ce pôle à l'eau de mer. L'oursin est alors ouvert le long de son équateur sans que les testicules soient blessés.

Cette opération a presque toujours pour effet, quand les testicules sont à maturation, de faire écouler deux ou trois gouttes de sperme par les pores génitaux.

Ces gouttes sont recueillies dans environ 0,5 cm^3. d'eau de mer.

On n'obtient de la sorte que des spermatozoïdes adultes.

Technique microscopique. — Pour fixer les spermatozoïdes nous avons mis en œuvre la méthode recommandée par Meves (28) et Gilson (29). Une légère couche de liquide renfermant les spermatozoïdes était étendue sur une lame, et *sans attendre* la dessiccation, retournée sur un large verre de montre rempli presque jusqu'au bord d'acide osmique, ou d'un mélange d'acide osmique et d'acide acétique. Le tout était disposé dans une chambre humide, et les préparations restaient exposées aux vapeurs osmiques pendant 1 heure. Après cela nous les laissions évaporer à la t° ordinaire, pendant le court temps (10-15 min.) justement suffisant pour que les spermatozoïdes puissent adhérer au verre.

Lavage à l'eau distillée. Coloration au Gram ou à l'hématoxyline ferrique. Cette dernière méthode, dont nous nous sommes presqu'exclusivement servi, est de loin la meilleure, grâce à la précision dans la différentiation qu'elle permet d'atteindre.

EXPÉRIENCES.

Nous diviserons comme suit l'exposé de nos expériences :

I. Action des extraits d'œufs sur les spermatozoïdes.

A. Transformations morphologiques.

B. Transformations physiologiques.

II. Action d'une substance colloïde (gélatine) sur les spermatozoïdes.

III. Action des liquides hyper- et hypotoniques, alcalins et acides sur les spermatozoïdes.

I. Action des extraits d'œufs sur les spermatozoïdes.

A. Transformations morphologiques.

Quand on dépose une goutte de sperme dans de l'extrait d'œuf, on assiste à des transformations morphologiques très nettes de la tête du spermatozoïde.

On sait que le spermatozoïde d'*Echinus microtuberculatus*— seule espèce sur laquelle nos expériences aient été exécutées— présente une structure très simple [cf. Field (19)] : on n'y distingue que la tête plus ou moins effilée à sa partie antérieure, le corps intermédiaire à peu près sphérique, et la queue très fine et extrêmement longue. La figure 1 (1) représente précisément quelques-uns de ces spermatozoïdes normaux.

Au moyen de méthodes spéciales et de différentiations électives, il est possible de mettre quelquefois en évidence près de l'extrémité céphalique un corpuscule plus colorable : c'est le mitosome de certains auteurs (Field), le perforatorium d'autres auteurs.

Il nous a été donné de le voir à plusieurs reprises, non dans des spermatozoïdes normaux cependant, mais dans des

(1) Les figures 1 à 15 sont reproduites sur la planche VI, les figures 16 à 24, sur la planche VII.

spermatozoïdes ayant déjà subi certaines transformations (cf. fig. 2). Cette figure montre nettement un spermatozoïde renfermant d'un côté le corpuscule intermédiaire auquel fait suite (vers la gauche) le flagellum, et de l'autre côté un petit corpuscule plus coloré qui est précisément le mitosome.

Field (fig. 19) indique comme dimension des têtes de spermatozoïdes normaux d'Echinus : en longueur 4 μ, en largeur 2,2 μ environ.

Nos mensurations nous ont donné des résultats différents; d'un grand nombre de mesures, il résulte que les têtes de spermatozoïdes ont une longueur oscillant entre 1 et 1.5 μ, et une largeur se rapprochant toujours de 1 μ.

Quand on met donc du sperme au contact d'extraits d'œufs, on assiste aux transformations suivantes :

1° *Arrondissement de la tête.* — La tête proprement dite du spermatozoïde perd sa forme légèrement allongée et pointue, et devient nettement sphérique.

Ce phénomène s'observe instantanément et se produit dès que les spermatozoïdes arrivent au contact de l'extrait d'œuf.

Il est du reste absolument concomitant d'un processus manifeste de gonflement. C'est ce que montre nettement la comparaison des figures 1 et 3. La fig. 1 est une photographie de sperme normal : le caractère pointu des têtes est net. La fig. 3 représente des spermatozoïdes qui viennent d'être mis au contact d'extraits d'œufs. On distingue le caractère plus globuleux des têtes spermatiques, et en outre un processus général de gonflement dont nous allons aborder maintenant l'étude.

2° *Gonflement de la tête.* — En même temps que se produit l'arrondissement de la tête, se manifeste aussi un gonflement de cette partie du spermatozoïde. Tous les diamètres s'accroissent, et l'examen des préparations montre que c'est bien la tête toute entière avec sa chromatine, et non pas seulement la légère enveloppe protoplasmique qui l'entoure, qui subit ce gonflement. Les préparations montrent en conséquence de grosses vésicules retenant très fortement l'hématoxyline.

Nous avons fait de nombreuses expériences à ce sujet : voici notamment quelques mensurations.

Longueurs des têtes spermatiques mesurées le plus souvent : 2—2,5—2—3—1,75 μ.

Largeurs des spermatozoïdes respectifs : 2—2—2—2,5—1,75 μ.

On voit donc [cf. fig. 5] que beaucoup de spermatozoïdes ont acquis, dans beaucoup de cas, une tête presque ronde.

La comparaison des figures 1 et 4, ainsi que les figures 1 et 5 prouve ces faits. La figure 1 représente des spermatozoïdes normaux ; les fig. 4 et 5 les mêmes spermatozoïdes mis dans de l'extrait d'œuf (respectivement 4 heures et 3 heures). On distingue sans qu'aucun doute ne soit possible, un gonflement manifeste des têtes spermatiques sous l'action de ces extraits. Le phénomène, particulièrement net dans la fig. 4, a évidemment des intensités très différentes suivant les conditions expérimentales.

3° *Gonflement du corpuscule intermédiaire.* — Le corpuscule intermédiaire paraît aussi légèrement augmenté de volume chez les spermatozoïdes placés dans l'extrait d'œuf. Certains de ces centrosomes paraissent même aussi volumineux que la tête même du spermatozoïde : c'est ce que montrent certains éléments photographiés dans la fig. 3 et 10 (dans cette figure, la partie claire est le centrosome).

Chose curieuse, ce corpuscule prend quelquefois des formes diverses, notamment la forme en anneau, ainsi que le montre la figure 7. Cet anneau se brise ensuite à un endroit quelconque, prend une forme semblable à celle d'un fer à cheval — la fig. 6 montre un pareil corpuscule — et même nous avons vu dans un grand nombre de préparations qu'une seconde scission se produit, et divise ainsi le corpuscule unique en deux centrosomes allongés.

La fig. 6 montre aussi un spermatozoïde à double centrosome. Ces centrosomes en forme de bâtonnets se rétractent alors, et on peut voir dans certains spermatozoïdes des centrosomes punctiformes, semblables à ceux qui évoluent normale-

ment dans les œufs. La fig. 11 montre un spermatozoïde à double centrosome punctiforme.

Telles sont les transformations nettes qui s'observent dès le contact du sperme avec l'extrait d'œuf. Nos observations sont donc en complet accord, avec les faits (cités plus haut) mis en relief par Schücking (25) et von Dungern (26).

Mais les choses n'en restent pas là. Dans presque toutes nos expériences, les spermatozoïdes subissent encore des transformations beaucoup plus intéressantes et beaucoup plus curieuses qu'un simple gonflement.

4° *Transformation des têtes spermatiques.* — Ces transformations vont — ainsi que nous allons le montrer — plus ou moins loin, suivant la concentration de l'extrait d'œuf ou suivant les temps d'action mêmes de cet extrait. On comprendra aisément qu'aucune règle absolue ne puisse être établie à cet égard, puisqu'il était impossible de préparer toujours des extraits d'œufs strictement égaux à eux-mêmes. Et c'est ainsi que dans certaines expériences, la transformation complète des éléments mâles s'opérait presqu'instantanément, dans d'autres expériences après des temps variant entre $^1/_4$ d'heure et quatre heures.

Voici de quelles transformations il s'agit :

Une fois la tête des spermatozoïdes augmentée de volume, le gonflement s'accentue, mais non cependant suivant tous les diamètres. La tête redevient elliptique et s'allonge par conséquent. En même temps la chromatine devient moins compacte, cette tête prend moins avidement l'hématoxyline ferrique, et au lieu de rester, même après une forte différentiation très noire et opaque, elle se présente presque toujours beaucoup plus légèrement colorée et transparente.

La fig. 8 montre clairement le gonflement de la tête; les corpuscules intermédiaires munis du flagellum font suite aux parties céphaliques.

A cet état, les spermatozoïdes sont infiniment plus volumineux que les spermatozoïdes normaux, ainsi que l'indiquent les mensurations suivantes : longueurs les plus souvent observées

2,5—3—4,5—3,5—2,75—4 μ; largeur des mêmes spermatozoïdes 2,75—3—4—3—2,75—3,75. [On rencontre donc quelquefois des têtes de spermatozoïdes plus larges que longues].

On peut admettre — quoique nous ne puissions pas être absolument affirmatifs à cet égard — que c'est bien la tête proprement dite qui subit ce gonflement, et non la mince couche de protoplasme qui l'entoure : cela parce que le corpuscule intermédiaire se présente avec son aspect normal. Il est évident que si c'était cette mince couche cytoplasmique qui avait subi un gonflement, on devrait voir la trace de ce gonflement autour du corpuscule en question. Celui-ci n'occuperait donc plus alors une position excentrique par rapport à la tête proprement dite du spermatozoïde, ainsi que le montre nettement la fig. 8, mais il apparaîtrait entouré d'une zone de cytoplasme gonflé. Or, cela n'a pas été observé à ce stade-ci. Le phénomène ne se produit qu'à un moment ultérieur de l'évolution du spermatozoïde, ainsi que nous le verrons plus loin.

Et notons que c'est dans des spermatozoïdes ainsi évolués qu'on arrive à voir assez facilement le corpuscule terminal plus colorable désigné par Field (19) sous le nom de mitosome (cf. fig. 2).

Mais les transformations de ces cellules mâles sous l'influence de l'extrait d'œuf, sont plus profondes encore. Toute la tête continue à s'accroître et à gonfler dans des proportions quelquefois énormes. Nos mensurations ont relevé en effet des têtes de spermatozoïdes d'un diamètre de 5-6 et 8 μ. (On sait que le diamètre des têtes normales oscille entre 1 et 1,5 μ).

Fort probablement la légère pellicule de cytoplasme ovulaire qui entoure la tête même du spermatozoïde prend part aussi à ce processus d'accroissement, car le corpuscule intermédiaire apparaît à l'intérieur même d'une zone cytoplasmique, et ne se trouve plus en dehors de la tête proprement dite du spermatozoïde comme c'était le cas au stade antérieur (se reporter à fig. 8) Ce qui nous fait du reste admettre aussi que la partie protoplasmique doit avoir participé à ce gonflement considérable, c'est que jamais dans la fécondation normale on ne voit

la portion nucléaire du spermatozoïde prendre un développement aussi démesuré.

Les figures 9 et 12 montrent de ces spermatozoïdes à têtes très évoluées, à cytoplasme gonflé, enveloppant complètement le corpuscule intermédiaire. Ces spermatozoïdes avant d'être mis dans l'extrait d'œuf — étaient les mêmes que ceux qui ont fourni la fig. 1.

Nous voyons, qu'à ce stade, la queue étant mise à part, la tête du spermatozoïde se compose d'une masse arrondie et globuleuse représentant le noyau et le cytoplasme, masse moyennement avide d'hématoxyline, au centre de laquelle se trouve le centrosome, auquel s'attache précisément la portion caudale.

Mais chez certains spermatozoïdes, on constate encore qu'au dessus du corpuscule intermédiaire, et à l'intérieur de la tête même, il se forme une espèce de petite vésicule plus ou moins réfringente dont les bords sont un peu plus avides d'hématoxyline. C'est ce que montrent notamment les figures 12 et 13.

Quelle est la nature de ce petit organe ? A ce sujet nous ne pouvons évidemment faire que des hypothèses. Comme nous l'avons vu 1° apparaître dans un grand nombre d'expériences; 2° qu'il occupe le centre même de la tête ; 3° prend quelquefois assez bien l'hématoxyline ; 4° qu'il présente même de temps en temps une ébauche de structure (que les microphotographies ne sont pas parvenues à mettre en relief à cause de la petitesse de ces éléments); 5° qu'il n'apparaît que chez les spermatozoïdes assez évolués et fait totalement défaut chez les spermatozoïdes qui n'ont pas encore atteint un stade assez avancé (ainsi qu'en témoigne la fig. 8), nous pensons être en droit d'y voir une ébauche de pronucleus mâle, puisque une partie de la tête doit précisément se transformer en pronucleus lors du parcours exécuté par le spermatozoïde dans le cytoplasme ovulaire. Mais nous spécifions encore bien que ce n'est là qu'une hypothèse.

Il ressort évidemment de cette première série d'expériences que les éléments mâles subissent dans toutes leurs parties (la

queue mise à part), cela sous l'influence de subtances extraites des œufs, des transformations profondes.

Le corps intermédiaire gonfle, gagne une structure spéciale (circulaire ou autre), se divise quelques fois ; la tête subit un gonflement considérable qui n'intéresse d'abord que la partie nucléaire proprement dite, puis qui s'étend à la mince couche de cytoplasme qui entoure cette tête elle-même.

La rapidité avec laquelle ces transformations s'opèrent, dépend d'un grand nombre de conditions expérimentales peu définies encore, parmi lesquelles la concentration de l'extrait ovulaire joue cependant un rôle important.

Bref, sous l'action des extraits œufs, les spermatozoïdes peuvent devenir absolument méconnaissables, et ressembler à de petites cellules.

B) Transformations physiologiques

Nous avons eu l'occasion de faire aussi quelques observations relatives aux réactions physiologiques présentées par les spermatozoïdes mis au contact des extraits d'œufs.

1° Agglutination des spermatozoïdes. — Quand on dépose une goutte de sperme dans de l'extrait d'œuf très concentré, on constate qu'il se produit instantanément une agglutination des spermatozoïdes. Ceux-ci perdent leur mobilité, et forment ensemble un système de mailles très irrégulières. Le simple examen microscopique montre qu'il s'agit bien ici d'agglutination. Mais si on emploie de l'extrait d'œuf un peu moins concentré, on distingue nettement au microscope des spermatozoïdes à têtes gonflées, parfaitement vivants et mobiles, quoiqu'un peu plus lents que les spermatozoïdes normaux.

Nous vérifions donc quelques unes des données de Schücking (25), d'après lesquelles des extraits très concentrés paralysent et tuent ; moins concentrés, agglutinent et excitent ; peu conconcentrés, excitent simplement les spermatozoïdes.

Mais nous ne sommes pas aussi affirmatifs que l'auteur en ce qui concerne l'influence pernicieuse de l'acidité des extraits

d'œufs : car nous avons toujours vu que ceux-ci restaient actifs quoique possédant une réaction neutre ou extrêmement voisine de la neutralité. En effet, tels que nous les avons employés, ces extraits étaient absolument indifférents au tournesol, au rouge neutre, à la phénolphtaléine, au méthylorange et à l'acide rosolique.

Von Dungern (26) s'est aussi occupé de l'agglutination des spermatozoïdes, mais la plupart de ses résultats sont peu comparables aux nôtres, car il mettait des spermatozoïdes d'une espèce, dans de l'extrait d'œuf d'une autre espèce. Dans une série d'expériences, il a cependant mis des spermatozoïdes dans des œufs secoués et centrifugés. Il obtient aussi des effets variables suivant les quantités réciproques de sperme et d'extrait ovulaire.

2° Chimiotaxisme des spermatozoïdes pour l'extrait d'œuf. — Il était évidemment intéressant de voir si les spermatozoïdes étaient ou non attirés par de l'extrait ovulaire.

Pour cela nous avons mis en œuvre la méthode classique des tubes capillaires.

Des tubes de même diamètre (de 0,5 à 0,75 mm.) et de même longueur (1,5 cm.), étaient remplis soit d'eau de mer, soit d'extrait d'œufs ; puis, pour éviter les phénomènes de capillarité, ils furent fermés à l'une de leurs extrémités au moyen de paraffine. Ils furent ensuite plongés à des distances égales les uns des autres dans une petite boite de Petri, renfermant de l'eau de mer mélangée à du sperme en assez grande abondance.

Le contact dure des temps variables (de 1 à 3 heures), puis les tubes sont disposés dans des verres de montre remplis d'eau de mer et examinés au microscope.

Dans toutes nos expériences, nous avons toujours observé que les spermatozoïdes ne pénétraient que très peu dans les capillaires renfermant de l'eau de mer. On n'y trouvait en effet, qu'une zone très étroite où quelques spermatozoïdes s'étaient répandus, zone large de 0,5 mm. environ.

Tandis que dans les capillaires remplis d'extraits ovulaires, la pénétration était active : il nous a été donné plusieurs fois de pouvoir observer un bouchon de spermatozoïdes, long de plusieurs millimètres.

Il ne nous semble donc pas douteux que les spermatozoïdes ne soient positivement chimiotaxiques vis-à-vis de substances extraites des œufs.

Le résultat de ces expériences est en désaccord avec les opinions exprimées par von Dungern (26) et Buller (32). Le premier de ces auteurs écrit en effet (fig. 35) „ dass keine Substanzen von den Eiern ausgehen, welche die Spermatozoen auf messbare Entfernungen anlocken „ Le second, en se servant de la méthode des tubes capillaires, a constaté notamment que l'eau de mer, dans laquelle avaient séjourné des œufs d'*Arbacia*, n'exerçait aucune action sur les spermatozoïdes de cet Echinoderme.

Les expériences de la série suivante donneront du reste aussi des résultats différents de ceux obtenus par les deux auteurs précités.

3° Chimiotaxisme des spermatozoïdes vis-à-vis des œufs :

A) Expériences exécutées au moyen de spermatozoïdes normaux (Expériences témoins)

Il est connu que des œufs d'oursins mis dans un liquide riche en spermatozoïdes, s'entourent d'une auréole d'éléments mâles qui se pressent en foule autour de la surface ovulaire. Nous avons fixé une expérience de ce genre (cf fig. 14), en projettant quelques gouttes de sublimé acétique sur un mélange d'œufs et de sperme exécuté dans un porte objet creux.

Mais il va de soi que cette expérience ne prouve pas directement que le chimiotaxisme existe ; il s'agit peut être là d'un haptotaxisme, ou d'un taxisme analogue.

Mais en mettant des œufs d'Echinus dans un tube capillaire fermé à l'une de ses extrémités, et en le plaçant dans de l'eau de mer renfermant un peu de sperme, nous avons pu voir à plusieurs

reprises que tous les œufs, aussi bien ceux qui étaient rapprochés de l'extrémité libre que ceux qui se trouvaient près du bouchon en paraffine, détachaient leur membrane.

Les spermatozoïdes normaux sont donc positivement chimiotaxique, tout autant vis-à-vis des œufs, que des extraits d'œufs. Mais il était évidemment important d'étudier à ce point de vue les spermatozoïdes ayant été préalablement mis au contact des extraits d'œufs (*).

B) Expériences exécutées au moyen de spermatozoïdes mis préalablement au contact d'extraits d'œufs.

Ces expériences furent exécutées parallèlement avec les expériences de la série précédente, dans les mêmes conditions par conséquent, et au moyen des mêmes spermes.

Nous prenons donc quelques gouttes de sperme, et y mélangeons quelques gouttes d'extrait d'œuf. Nous laissons en contact de 15 à 30 minutes. (Il faut évidemment veiller à ce que l'extrait d'œuf ne soit pas trop concentré, pour éviter l'agglutination des spermatozoïdes). Nous prenons alors des œufs, et y additionnons une goutte du mélange précédent, c'est-à-dire que nous mettons ces œufs en contact avec des spermatozoïdes ayant séjourné dans un extrait ovulaire.

Nous avons régulièrement constaté, dans un grand nombre d'expériences, que les spermatozoïdes ne se concentraient plus en masse autour des œufs, et ne formaient plus d'auréole caractéristique. Nous avons fixé l'expérience en employant la méthode sus-indiquée, et la fig. 15 montre des œufs plongés dans un milieu riche en spermatozoïdes, mais non entourés comme dans la fig. 14 d'une auréole caractéristique.

Chose remarquable, ces spermatozoïdes possèdent encore leur pouvoir de fécondation, car les œufs finissent par détacher

(*) Les expériences précédentes ne servent du reste que de témoins aux expériences suivantes.

une membrane, ainsi que le montre nettement l'examen attentif de la fig. 15 ([1]).

Nous interprétons ces faits en disant que l'extrait d'œuf annihile le chimiotaxisme positif des spermatozoïdes pour les œufs, mais laisse intacts d'autres taxismes nécessaires à la fécondation, tels par exemple que l'haptotaxisme. Et en effet, quand on examine bien les œufs dans ces expériences, on voit toujours que les spermatozoïdes arrivés par hasard au contact de la surface ovulaire, y restent étroitement appliqués.

Ce qui nous confirme aussi dans cette interprétation, ce sont les expériences exécutées au moyen de tubes capillaires. Des œufs ont été déposés dans ces tubes, et ces derniers disposés dans de petits cristallisoirs comme dans les expériences exécutées au moyen de sperme normal. Mais au lieu d'employer du sperme normal, nous avons employé du sperme ayant été mis au contact d'extraits d'œufs.

On constate alors dans les tubes capillaires, que seuls les quelques œufs qui se trouvaient tout près de l'extrémité ouverte ont été fécondés et forment leur membrane caractéristique ; tandis que tous les œufs de l'intérieur du tube, contrairement à ce qui se passait avec des spermatozoïdes normaux, restent intacts, à en juger du moins par l'absence de formation de membrane.

Nous estimons donc que ces expériences prouvent, que des spermatozoïdes ayant été mis au contact d'extraits d'œufs perdent leur chimiotaxisme, mais conservent encore d'autres fonctions d'irritabilité leur permettant de remplir leur rôle reproducteur.

Les extraits d'œufs font donc évoluer les cellules mâles 1° puisqu'ils provoquent des transformations morphologiques

En outre l'examen de ces œufs nous a montré qu'il se formait un double aster, et sur des coupes nous avons pu nous assurer de la présence du spermatozoïde au sein du cytoplasme, c'est à dire de la réalité d'une véritable fécondation.

qui rapprochent incontestablement la structure de ces éléments de celle des pronucléus prêts à se fusionner aux pronucléus femelles ; 2° puisqu'ils déterminent un changement net dans les propriétés physiologiques des spermatozoïdes.

Et il est naturel, quand on y réfléchit un peu, que ce soit le chimiotaxisme qui disparaisse le premier sous l'action de l'extrait d'œuf, car on se rend bien compte que ce taxisme devient tout à fait inutile à la cellule mâle, dès qu'elle a pénétré dans l'œuf. Pour que l'acte principal de la fécondation puisse s'opérer, c'est à dire la réunion des deux pronucléi, on comprend même que le chimiotaxisme du spermatozoïde pour le cytoplasme ovulaire ne peut être qu'une entrave à sa progression régulière vers le noyau femelle. Ce taxisme doit disparaître, les propriétés physiologiques du spermatozoïde se transformer, et un „ nucléo-taxisme „ ou un haptotaxisme spécial diriger le pronucléus mâle vers le pronucléus femelle.

II. — Action des Substances colloïdes sur les spermatozoïdes

Il est incontestable que quand on fait agir sur des spermatozoïdes des extraits d'œufs, on fait agir à la fois sur ces éléments mâles des substances chimiques, et de nouvelles conditions physiques : on les met en effet dans un milieu colloïdal. On pourrait se demander par conséquent, en réfléchissant au fait que le cytoplasme ovulaire constitue précisément un pareil milieu, quel effet exerce sur les spermatozoïdes un milieu contenant des éléments colloïdaux.

Pour aborder l'étude de cette question, nous avons fait agir sur les éléments mâles des solutions très diluées de gélatine, faites dans de l'eau de mer, additionnée ou non d'extrait d'œuf.

Nous remarquerons ici que von Dungern (26) avait déjà aussi mélangé des extraits d'œufs à des solutions de gélatine : mais ces solutions — contrairement aux nôtres — étaient très concentrées, se solidifiaient ; l'auteur en isolait de petites parcelles, les mettait dans du sperme et constatait que les spermatozoïdes

ne se plaçaient perpendiculairement à leur surface, que quand ces solutions gélatineuses étaient faites avec des extraits d'œufs; avec de l'eau de mer, les spermatozoïdes occupaient des positions indifférentes. Ces expériences ne sont donc pas du tout comparables aux nôtres.

Nos solutions de gélatine étaient faites de telle sorte, qu'il n'y avait jamais plus de 2,5 °/₀ de gélatine; la proportion la plus petite était 1,25 °/₀. Ces solutions étaient encore semi-liquides à froid et ne se prenaient, imparfaitement du reste, en gel qu'après un temps assez long.

Le sperme était mélangé à une goutte de gélatine disposée sur une lame, puis cette goutte étendue sur la lame même, en couche mince. La fixation s'opérait au moyen des vapeurs osmiques (2 °/₀), soit quelques minutes après le mélange, soit $^1/_4$, 1, 2 à 4 heures après. Dans ce dernier cas, il était fait usage de chambres humides.

A. Expériences exécutées au moyen de gélatine mélangée a des extraits d'œufs.

De l'extrait d'œuf gélatinisé à 2,5 ou à 1,25 °/₀, exerce sur es spermatozoïdes le même effet, que de l'extrait d'œuf tel quel, du moins au point de vue de l'action exercée sur la structure morphologique. Même gonflement des corps centraux et des têtes : c'est ce que montre la fig. 16 (comparer avec fig. 4).

En général — comme cela se passe du reste aussi dans l'extrait ovulaire pur — les transformations sont opérées après 15 ou 30 minutes et, pour autant que nous puissions en juger par nos expériences, il ne sert à rien d'attendre un contact plus long.

Peut-être la transformation est-elle plus rapide dans de l'extrait gélatinisé à 2,5 °/₀, que dans de l'extrait à 1,25 °/₀.

Nous avons en outre rencontré dans l'extrait gélatinisé des spermatozoïdes d'une dimension énorme. La fig. 17 montre un de ces spermatozoïdes, toute la tête est gonflée : la partie nucléaire est énorme, on la voit entourée de sa gaine, le protoplasme particulièrement visible à gauche et terminée par le

corpuscule intermédiaire (en pointe vers la droite), auquel fait suite le flagellum (qui se dirige vers le bas et à droite).

B. Expériences exécutées au moyen de solutions de gélatine dans de l'eau de mer.

Les spermatozoïdes mis dans de l'eau de mer gélatinisée subissent aussi des altérations morphologiques remarquables.

Les têtes spermatiques gonflent, ainsi que le montrent les figures 18 et 20, mais ce gonflement paraît intéresser beaucoup moins la substance nucléaire de la tête et le centrosome— contrairement à ce qui se passe pour l'extrait d'œuf gélatinisé ou non — car plus le gonflement s'accuse, moins la tête devient colorable par l'hématoxyline ferrique.

La fig. 19 est très démonstrative à cet égard, et indique bien aussi — contrairement à ce qu'on observait chez les spermatozoïdes gonflés par l'extrait d'œuf (cf. fig. 12 et 9) — que le corpuscule intermédiaire n'a subi aucune modification.

Le gonflement sous l'action de la gélatine peut donc être extrêmement accusé (têtes longues de 7 à 15 μ, larges de 7 à 10 μ), et paraît en tous cas être d'une toute autre nature que celui provoqué par les extraits d'œufs (comparer la fig. 19 à la fig. 12).

Il est intéressant aussi de comparer au point de vue de la différence d'action sur la partie nucléaire de la tête spermatique, les spermatozoïdes ayant séjourné dans de l'extrait ovulaire gélatinisé (cf. fig. 17):(on y voit l'énorme gonflement de la partie chromatique), avec les spermatozoïdes ayant séjourné dans de l'eau de mer gélatinisée (cf. fig. 19), chez lesquels la partie chromatique, c'est-à-dire nucléaire, de la tête est peu visible. Du reste chez ceux-ci les centrosomes n'ont pas augmenté de volume, et ne présentent aucun des changements provoqués par les extraits d'œufs (comparer avec les figures 12, 9 et 13).

La gélatine force donc aussi la tête spermatique à se gonfler d'une certaine manière, et provoque une imbibition aqueuse particulièrement nette.

Il est évident qu'on peut trouver tous les intermédiaires entre les figures 18 et 19, ainsi qu'en témoigne la figure 20.

III. Influences exercées sur les spermatozoïdes par les milieux hyper- et hypotoniques, alcalins et acides.

Les études sur les œufs ont montré que ces cellules sont extrêmement sensibles à la pression osmotique, ainsi qu'à la réaction du milieu dans lequel elles se trouvent plongées. Même plus, on peut affirmer qu'il ne s'agit pas en l'espèce d'une sensibilité fortuite, de pur hasard, car il ressort des considérations nombreuses émises par Loeb dans son dernier livre sur la parthénogenèse artificielle, que le cytoplasme ovulaire a absolument besoin d'excitations semblables à celles exercées par les substances acides et hypertoniques, pour pouvoir exécuter son développement normal.

Il était donc intéressant de voir quelle était l'action que la pression osmotique et la réaction du milieu auraient exercée sur les cellules mâles. Nous avons pu faire à ce sujet les quelques expériences suivantes.

A. Action des solutions hypertoniques.

Comme solutions hypertoniques, nous nous sommes servis d'eau de mer additionnée de 3 % de NaCl. Une goutte de sperme est mélangée à cette eau de mer hypertonique, et les préparations faites après quelques minutes, ou après $^3/_4$—1—3—4—7 heures de contact.

Ce liquide hypertonique s'est montré extrêmement toxique pour les spermatozoïdes. Ceux-ci y subissent des altérations manifestes : leurs têtes se gonflent très irrégulièrement, mais au lieu d'observer ce gonflement régulier présenté toujours par des spermatozoïdes mis dans de l'extrait d'œuf, on ne voit que des têtes déformées, irrégulièrement bosselées, séparées même dans beaucoup de cas de leur appareil centrosomial et caudal.

La fig. 7 montre la chose clairement : les petits cercles noirs, clairs au centre, sont précisément des corpuscules centraux en forme d'anneaux, détachés des têtes spermatiques correspondantes.

B. Action des solutions hypotoniques.

Comme solutions hypotoniques, nous avons employé de l'eau de mer diluée de moitié. Les solutions hypotoniques exercent une action diamétralement opposée aux solutions hypertoniques.

Les spermatozoïdes n'y subissent — même après 4 heures de séjour — aucune altération. La tête paraît agrandie, elle devient surtout une peu plus allongée, se recourbe très nettement en forme de virgule. (Cf. fig. 21.)

Le corpuscule central gagne des dimensions un peu plus grandes mais, chose curieuse, il occupe toutes les positions possibles autour de la tête même du spermatozoïde. Le plus souvent, il occupe — ainsi que le montre très nettement la fig. 21 — une position tout à fait latérale.

La queue s'enroule même quelquefois entièrement autour de la tête et du corpuscule, qui apparaissent par là même renfermés dans une espèce de capsule, ainsi que le montre la fig. 21.

Il est à noter que Ries (10 et 11) a observé aussi dans les spermatozoïdes de plusieurs espèces, le déplacement latéral de tout l'appareil centrosomial et caudal.

A en juger donc par le déplacement de ces appareils, et par la position fréquente du flagellum autour de la tête, les solutions hypotoniques excitent au plus haut point la motilité des spermatozoïdes.

Nous avons du reste pu nous en assurer aussi par l'examen du sperme vivant.

C. Action des substances acides.

Nous avons mis en œuvre, comme milieux acides, des solutions se rapprochant de celles que Loeb a employées pour les œufs,

c'est à dire des solutions de 2,5 cm^3 n/5 d'acide valérianique dans 100 cm^3 d'eau de mer.

On constate d'abord que cette solution provoque toujours le gonflement des têtes des spermatozoïdes. C'est ce que montre très bien la fig. 23

Mais quand on examine attentivement les préparations, on constate que ce gonflement n'est pas de même nature que celui subi par les spermatozoïdes sous l'influence de l'extrait d'œuf.

En effet, c'est surtout la couche externe, donc protoplasmique, entourant la partie nucléaire de la tête, qui subit le gonflement. Celui-ci, ainsi que le montre la fig. 22, commence par être régulier, et on dirait que les spermatozoïdes, à ces stades ci, ont été plongés dans de l'extrait d'œuf ; mais ensuite ce gonflement continue, la portion périphérique des têtes se liquéfie absolument comme une gélatine imbibée d'eau, les contours perdent totalement leur netteté, et l'on obtient des images semblables à celles représentées dans la fig. 23.

L'acide valérianique tel qu'il a été mis en œuvre, exerce donc une action particulière — nuisible à la longue — sur le spermatozoïde. Il est évident que l'on parviendrait peut-être à éviter cette nocuité, en se servant d'acides plus dilués et en les faisant agir pendant des temps moins prolongés : nous n'avons pas eu l'occasion de procéder à ces expériences.

Nous rappellerons ici à ce propos que le contact prolongé des œufs dans des solutions acides est nuisible également : Loeb a en effet démontré que ce contact ne peut durer, pour produire son effet utile, au-delà d'une certaine limite [dépendant de la force de l'acide (cf. 1 pg. 100 et suiv.).]

Quoiqu'il en soit, il est curieux de rapprocher cette action des acides sur les spermatozoïdes, et peut-être même sur le cytoplasme spermatique, de l'action exercée par ces substances sur le cytoplasme ovulaire. Loeb (1 pg 62) a démontré en effet que les acides exercent aussi une action de dissolution, qu'il appelle " cytolytique ", sur la couche toute périphérique du cytoplasme ovulaire, action grâce à laquelle de l'eau peut venir en contact avec le cytoplasme et provoquer la formation de la " Befrüchtungsmembran ".

Nous voyons donc l'acide exercer sur le cytoplasme ovulaire et sur le spermatozoïde, une action de semblable nature.

D. Action des substances alcalines.

Nous avons fait agir aussi — comme milieu alcalin — des solutions ayant approximativement la même teneur en alcali, que celles mises en œuvre par Loeb. Nos solutions contenaient pour 100 cm^3 d'eau de mer, 2 cm de NaOH n/10.

Les expériences nous ont donné des résultats assez inégaux. C'est ainsi que dans plusieurs expériences, nous n'avons pu observer une augmentation — pas constante du reste — du diamètre des têtes spermatiques, qu'après 7 heures de contact.

Dans d'autres expériences, au bout de 15 minutes, on pouvait observer une transformation très curieuse du spermatozoïde, consistant en un allongement caractéristique de la tête, allongement plus ou moins prononcé, mais visible dans beaucoup de spermatozoïdes. (Cf. fig. 24.)

Les mensurations nous ont donné les longueurs suivantes : 6—7—7,5—8 μ.

Les substances alcalines paraissent donc exercer une action moins spécifiques, que les substances hypertoniques, hypotoniques ou acides.

Il est à noter que Doflein (12) a vu aussi, dans certains cas, la tête des spermatozoïdes s'allonger considérablement dans le cytoplasme ovulaire.

Nous sommes donc en droit de conclure de ces quatre dernières séries d'expériences que *la pression osmotique et la réaction du milieu, exercent des actions manifestes mais différentes sur la morphologie, et partant sur l'état physiologique des spermatozoïdes.*

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Il ressort des expériences consignées dans ce travail, que les spermatozoïdes peuvent subir, tout autant que les œufs, sous l'action de divers facteurs, des transformations morphologiques et des modifications dans leurs réactions physiologiques.

Les études morphologiques ont démontré à suffisance qu'entre le moment où le spermatozoïde traverse la membrane ovulaire, et le moment où sa partie nucléaire se réunit au pronucleus femelle, il se passe dans cet élément mâle une série de transformations qui en font un pronucleus mâle.

Ces transformations successives pourraient être groupées sous le nom de stade de " préconjugaison. „

Or, nous pensons pouvoir démontrer par nos expériences, que l'évolution de ce stade de " préconjugaison „ peut être provoqué chez les spermatozoïdes par des substances extraites des œufs, substances ne présentant plus la moindre structure morphologique.

En effet, sous l'action de ces extraits, nous voyons les spermatozoïdes présenter „ in vitro " quelques unes des principales transformations qu'ils subissent à l'intérieur même du cytoplasme ovulaire, dans les conditions normales de la fécondation. On remarque en effet certaines modifications du centrosome, qui vont même jusqu'à la division ; puis un gonflement énorme de la partie nucléaire de la tête et le développement d'une petite vésicule qu'on est en droit peut-être d'homologuer avec la première ébauche du pronucleus mâle proprement dit. Ces transformations morphologiques sont accompagnées d'une modification importante dans les réactions physiologiques des spermatozoïdes : en effet, sous l'action des extraits, ces cellules perdent leur chimiotaxisme positif vis à vis des œufs. Ils fécondent encore sous l'influence d'autres taxismes, mais leur attraction à distance par les œufs n'existe plus.

Et les extraits d'œufs agissent-ils uniquement sur les spermatozoïdes par leur composition chimique : leur nature physique colloïdale n'interviendrait-elle pas dans l'une ou l'autre partie de cette action ? Des expériences exécutées au moyen de solutions de gélatine dans l'eau de mer ou dans des extraits d'œufs rendent cette dernière hypothèse certaine. Des spermatozoïdes mis dans de l'extrait ovulaire gélatinisé, y évoluent comme dans de l'extrait d'œuf, et y atteignent quelquefois des dimensions démesurées ; mais, mis simplement dans de l'eau de mer gélatinisée, il se produit aussi des phénomènes de gonflement, qui sont différents cependant de ceux qu'on observe par la mise en œuvre des extraits d'œufs.

Sans pouvoir être absolument affirmatif à cet égard, nous pensons que les extraits d'œufs agissent à la fois sur les portions centrosomiales, nucléaires et protoplasmiques du spermatozoïde, alors que les milieux colloïdaux n'intéressent particulièrement que la portion protoplasmique. Mais nous spécifions encore qu'il y a lieu de faire des réserves au sujet de ce dernier point.

De plus les spermatozoïdes ne sont pas indifférents à la réaction et à la pression osmotique du milieu dans lequel ils se trouvent.

L'hypertonicité leur est particulièrement défavorable ; l'hypotonicité — à en juger par le déplacement des corpuscules intermédiaires autour des têtes, et le parfait état de conservation de tous les éléments — accélère leur mobilité, et ne les altère en aucune façon.

Les milieux acides portent vraisemblablement leur action — tout comme les milieux colloïdaux — sur le cytoplasme, car ils le forcent à se gonfler très fortement. Cette action doit être nocive, car le gonflement provoque une tuméfaction qui aboutit à une véritable destruction.

Les milieux alcalins exercent un action assez complexe : ils provoquent, en effet, un certain gonflement, précédé souvent d'un allongement considérable des têtes spermatiques.

Telles sont les expériences que nous avons pu exécuter pendant notre court séjour à la Station Zoologique de Naples. Nous tenons à spécifier qu'elles sont encore fort incomplètes car — ainsi que cela ressort à l'évidence de la lecture du livre de Loeb (1) — chaque substance dont on expérimente l'action sur des cellules sexuelles, doit être mise en œuvre à une concentration donnée, et pendant un temps optimal.

Ce sont donc des séries d'expériences qui doivent être exécutées : ce que nous n'avons pas eu le temps de faire.

Mais nous sommes cependant en droit de conclure de nos recherches, que la cellule mâle, tout autant que la cellule femelle, est susceptible „ d'évolution " sous l'action des agents externes, tant en ce qui concerne sa structure morphologique que ses réactions physiologiques.

Et nos expériences attirent aussi spécialement l'attention sur la partie cytoplasmique du spermatozoïde. A l'état normal elle ne forme autour de l'élément mâle qu'une mince petite pellicule invisible sans la mise en œuvre de méthodes spéciales : elle est donc — tout comme la partie nucléaire proprement dite — contractée très fortement sur elle-même. Mais sous l'action des divers agents elle se développe énormément, et peut prendre des dimensions considérables. Il est donc impossible de la considérer comme une partie négligeable du spermatozoïde, et il y aurait lieu de rechercher plus précisément le rôle qu'elle remplit dans la fécondation normale.

Nous serions vraisemblablement arrivés à des résultats plus caractéristiques, si au lieu de nous servir de spermatozoïdes d'Echinides, nous nous étions adressé aux spermatozoïdes d'Astérides par exemple, qui — contrairement aux premiers — ont le temps d'évoluer davantage, et de devenir dans l'œuf des pronucleus en tout semblables au pronucleus femelle.

Il est évident que de pareilles recherches sont indispensables pour élucider la nature des phénomènes de fécondation qui se passent entre les éléments mâle et femelle, avant que leurs parties nucléaires ne conjugent et ne constituent le noyau

définitif de l'œuf fécondé. Car il est de plus en plus certain — celà grâce aux recherches faites en ces dernières années au sujet des phénomènes intimes de la fécondation — que cette dernière ne consiste pas seulement en la juxtaposition des portions nucléaires des éléments sexuels, mais que des éléments cytoplasmiques y jouent aussi un rôle plus important qu'on ne l'a supposé jusqu'à présent. La fécondation — comme tous les phénomènes vitaux du reste — nous apparaît donc de plus en plus, comme un processus très complexe d'interéchanges d'ordre chimique.

En terminant, nous tenons à remercier la direction de la Station Zoologique de l'obligeance qu'elle a mise à nous procurer notre matériel, mais particulièrement aussi M. le Dr Burian pour l'intérêt constant qu'il a bien voulu porter à nos recherches.

OUVRAGES CITÉS

1. LOEB : Die chemische Entwicklungserregung dies tierischen Eies, 1909. Berlin.
2. FISCHEL : *Arch. f. Entw. Mech.*, 1906-32.
3. FISCHEL : *Idem*, 1906-526.
4. CREMER : *Sitz. ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys.* Münich, 1900.
5. GIES : *Amer. Journ. of Phys.* VI-53-1901.
6. KUPELWIESER : *Biol. Centralbl.* XXVI-744-1906.
7. WINKLER : *Nachr. d. Ges. d Wiss.* Göttingen 1900-187.
8. PIERI : *Arch. de Zool. expérim.* 1899-XXIX.
9. FISCHEL : *Anat. Hefte. Merkel* 1899-XI.
10. RIES : *Archiv. f. Mikr. Anat.* 1909 Bd. LXXIV.
11. RIES : *Cent. f. Physiol. XXIII, et Histophysiol. d. Befruchtung.* Drechsel, Bern 1908.
12. DOFLEIN : *Arch. f. micr. Anat.* Bd. L ; 1897.
13. WILSON : *Atlas of the Fertil. a. Karyok. of the ovum.* New-York 1895.
14. KING : *Archiv. f. Entw. Mech.* 1906-XXI-94.
15. GODLEWSKI : *Idem* 1906-XX-58.
16. GODLEWSKI : *Idem* 1908-XXVI-276.
17. WILSON : *The Cell. in Development a. Inheritance* 1896.
18. MORGAN : *Archiv. f. Entw. Mech.* 1895 Bd II.
19. FIELD : *Journ. of Morphology*, 1895 Vol. XI.
20. KOSTANECKI : *Anat. Hefte* 1896.
21. WILSON et MATHEWS : *Journ. of Morphol.* 1895-X.
22. O. HERTWIG : *Morpholog. Jahrbücher.* Bd IV-156.
23. O. HERTWIG : *Idem* Bd IV, 178.
24. O. et R. HERTWIG : *Ien. Zeitschr. f. Naturwiss.* XX-1887-120.
25. SCHÜCKING : *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.* XCVII-1903 p. 50.
26. V. DUNGERN : *Zeit. f. allg. Physiol.* 1902, I, pg 34.
27. BALLOWITZ : *Zeitschr. f. wiss. Zoologie* 1890-L-329.
Int. Monatsch. f. Anat. in. Phys. 1894-II-218-245.
28. MEVES : *Arch. f. mikr. Anat.* L. pg. 110-141.
29. GILSON : *La Cellule* 1885-I.

30. MASSART : *Pollination sans fecondation.*
Bull. Jardin botan. Etat. Bruxelles. I. 1902.
31. BOVERI : *Arch. f. Entw. Mech.* 1895 B. II.
Zell-Studien 1890 (3) et 1900 (4).
32. BULLER : *Report of Brit. Assoc.* 1900-387.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Toutes les microphotographies reproduites dans les planches VI et VII ont été exécutées à un même grossissement (Zeiss. Imm. 12 mm. occ. comp. 18). Nous avons soigné spécialement à ce que les plaques photographiques soient toujours strictement posées à la même distance de l'objectif. Seules les fig. 14 et 15 sont faites, pour des raisons qu'on comprendra facilement, à un grossissement inférieur, et les fig. 12 et 13 à un grossissement un peu plus considérable, cela pour nous permettre de mieux mettre en relief certains détails histologiques des spermatozoïdes.

Il est inutile d'insister sur le fait que les figures servant de témoin dans certaines expériences, ont été exécutées à des grossissements strictement identiques à ceux employés pour les figures relatives à ces expériences mêmes.

Planche VI.

Fig. 1. — Spermatozoïdes normaux.
Expérience témoin de l'expérience 3.

Fig. 2. — Spermatozoïde ayant été mis dans de l'eau de mer acide (ac. valer.) et montrant 1° sa queue ; 2° le corpuscule central ; 3° au pôle opposé, le mitosome ; 4° un gonflement accusé de sa tête.

Fig. 3. — Spermatozoïdes mis au contact d'extraits d'œufs pendant 15 min. En comparant avec 1, on voit que la tête perd sa forme pointue, s'arrondit, et que le corpuscule intermédiaire à pris aussi des dimensions plus grandes.

Fig. 4. — Spermatozoïdes ayant séjourné 4 heures dans de l'extrait d'œuf. En comparant avec la fig. 1, on constate un gonflement net des têtes spermatiques.

Fig. 5. — Spermatozoïdes ayant séjourné 3 heures dans de l'extrait d'œuf. A comparer avec la fig. 1 : gonflement net des têtes spermatiques.

Fig. 6. — Spermatozoïdes ayant séjourné 1 heure dans de l'extrait d'œuf. On voit l'un des spermatozoïdes, celui de

droite, présenter un corpuscule intermédiaire ayant la forme d'un fer à cheval. Le spermatozoïde du milieu a un centrosome divisé en deux. On distingue nettement deux corpuscules allongés.

FIG. 7. — Sperme ayant séjourné quelques minutes dans de l'eau de mer hypertonique. Les spermatozoïdes sont détruits, et on voit un grand nombre de centrosomes en anneau (leur centre est clair) détachés des têtes spermatiques correspondantes. (Celles-ci ne sont pas visibles sur la préparation).

FIG. 8. — Spermatozoïdes ayant séjourné 3 heures dans de l'extrait d'œuf. Les têtes spermatiques sont très gonflées, mais tous les centrosomes sont encore en dehors de la portion gonflée. On distingue nettement les queues qui leur font suite.

FIG. 9. — Sperme ayant séjourné $^1/_4$ d'heure dans de l'extrait d'œuf très concentré. On voit l'énorme gonflement des têtes spermatiques. Le centrosome — contrairement à ce qui a été observé dans la fig. 8, — est au centre de la portion gonflée. Celle-ci est donc constituée en partie par le cytoplasme proprement dit du spermatozoïde. Dans certains spermatozoïdes, on voit déjà se constituer au côté du centrosome, du côté opposé au flagellum, une petite vésicule à bords plus fortement colorés.

FIG. 10. — Spermatozoïdes ayant été pendant $^1/_4$ d'heure au contact d'extraits d'œufs. La partie claire est le centrosome, la partie foncée la tête proprement dite du spermatozoïde. On voit que ces deux parties sont sensiblement de même volume, ce qui indique un gonflement du centrosome. (A comparer avec fig. 1.).

FIG. 11. — Spermatozoïde ayant séjourné $^1/_4$ d'heure dans de l'extrait d'œuf. On distingue la tête, puis le centrosome dédoublé auquel fait suite (vers le bas) la queue.

FIG. 12. — Mêmes spermatozoïdes que dans la fig. 9, mais à un grossissement plus fort. La fig. montre nettement la vésicule claire à bords colorés qui s'est développée au dessus du centrosome, à l'intérieur du cytoplasme spermatique gonflé.

Fig. 13. — Idem que fig. 12, mais provenant d'une autre expérience ; cette figure montre très clairement le centrosome avec sa vésicule (pronucleus mâle ?) situés au centre de la tête du spermatozoïde.

Fig. 14. — Œufs d'Echinus mis dans de l'eau de mer contenant des spermatozoïdes normaux. On voit plusieurs œufs entourés d'une auréole de spermatozoïdes ; certains d'entre eux ont formé leur membrane.

Fig. 15. — Mêmes œufs mis dans de l'eau de mer contenant des spermatozoïdes ayant été mis 15 à 30 minutes au contact d'extraits d'œufs. Les spermatozoïdes ne forment plus d'auréole autour des œufs, comme dans la fig. 14 ; mais ceux-ci sont fécondés cependant, et on voit chez certains d'entre eux, le début de la formation d'une membrane.

Planche VII.

Fig. 16. — Spermatozoïdes mis dans de l'extrait d'œuf gélatinisé à 2,5 °/₀. Le contact n'a duré que quelques minutes. Gonflement accusé des têtes. Ces spermatozoïdes — avant leur mise dans l'extrait gélatinisé — avaient fourni la fig. 1, planche VI ; comparer aussi avec fig. 4, planche VI.

Fig. 17. — Spermatozoïde ayant séjourné 4 heures dans de l'extrait d'œuf gélatinisé à 2,5 °/₀. On voit un spermatozoïde énorme ; dans sa tête on distingue nettement 1° une enveloppe cytoplasmique légèrement colorée (vers la gauche) ; 2° la partie nucléaire proprement dite, très gonflée, à laquelle fait suite, vers le bas, le centrosome en pointe terminé par la queue, qu'on peut voir se diriger vers le bas et à droite.

Fig. 18. — Spermatozoïdes mis au contact d'eau de mer gélatinée à 2,5 °/₀. On voit plusieurs spermatozoïdes nettement augmentés de volume. Le centrosome est très coloré, la tête proprement dite qui a subi le gonflement, ne l'est que très peu. Il s'agit donc d'un processus de gonflement différent de celui observé dans les fig. 5, 4 et 8.

FIG. 19. — Spermatozoïdes mis au contact d'eau de mer gélatinisée à 2,5 °/₀. On voit que les têtes sont démesurément gonflées. Le centrosome n'a pas augmenté de volume, ne se trouve pas à l'intérieur de la partie gonflée, et celle-ci n'est presque pas colorable. En comparant cette figure avec les figures 12, 9 et 13, on voit qu'il s'agit d'un processus d'évolution tout différent. Il ne reste rien en effet de la portion chromatique (nucléaire proprement dite) du spermatozoïde.

FIG. 20. — Sperme ayant séjourné quelques minutes dans de l'eau de mer gélatinisée à 2,5 °/₀. Gonflement des têtes spermatiques. Au fur et à mesure que ce gonflement s'accuse, la colorabilité diminue. (Stade intermédiaire entre fig. 18 et 19).

FIG. 21. — Sperme ayant séjourné 4 heures dans de l'eau de mer hypotonique. Caractère en virgule des spermatozoïdes ; déplacement du centrosome qui occupe une position latérale par rapport à la tête proprement dite ; vers la gauche, spermatozoïde avec centrosome tout à fait latéral entouré complètement de son flagellum.

FIG. 22. — Spermatozoïde ayant séjourné 1 heure dans de l'eau de mer acide. Au centre on aperçoit nettement la tête et le centrosome du spermatozoïde (à ce dernier fait suite le flagellum); ces deux parties sont entourées de la couche de cytoplasmé qui présente un premier début de gonflement.

FIG. 23. — Spermatozoïdes ayant séjourné 3 heures dans de l'eau de mer acide. On voit que tous les spermatozoïdes sont gonflés, mais qu'un grand nombre d'entre eux sont entourés de leur gaine cytoplasmique, gonflée à tel point que les contours nets ne sont plus visibles.

FIG. 24. — Spermatozoïdes ayant séjourné $^1/_4$ d'heure dans de l'eau de mer rendue alcaline. Certaines têtes restent intactes, d'autres gonflent, ou présentent un allongement très caractéristique.

Recherches sur les œufs di-et-trispermiques de grenouille,

PAR

MAURICE HERLANT

(Travail fait à l'Institut d'Anatomie R. WAROCQUÉ)
Université de Bruxelles.

INTRODUCTION

Il est à peine besoin de rappeler que depuis les découvertes de BÜTSCHLI, d'Ed. VAN BENEDEN, d'O. HERTWIG, jusqu'aux hypothèses les plus récentes sur le mécanisme intime de l'hérédité et de la variabilité, l'immense majorité des travaux qui, de près ou de loin, s'occupent de la fécondation, considèrent essentiellement dans celle-ci l'union *d'une* cellule femelle avec *une* cellule mâle. Cette notion fondamentale, d'ailleurs vérifiée et définitivement acquise par d'innombrables observations, s'est à ce point imposée à l'esprit qu'on est tenté de qualifier d'anomalie toute exception à cette règle quasi générale et les cas de *polyspermie*, en particulier, ont presque toujours été signalés comme tels. On remarqua bientôt, cependant, que si, chez les Echinodermes, l'Ascaris, la Grenouille etc. on ne constatait la polyspermie que très exceptionnellement, ou associée à des conditions de vie anormales ou artificielles, chez un certain nombre d'espèces, au contraire, elle se montrait avec une telle constance qu'il ne pouvait plus être question d'anomalies.

Différents travaux, et surtout ceux de RÜCKERT (92-99-1910) ont ainsi nettement établi l'existence d'une *polyspermie physiologique,* normale, constante chez toute une série d'animaux,

où la fécondation comporte toujours la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans l'œuf. C'est principalement dans le groupe des Sélaciens que les recherches relatives à ce point ont atteint le plus haut degré de précision.

De nombreux auteurs (Balfour (74), Schultz (75-77), Kastchenko (88), H. E. Ziegler (94) etc.) avaient attiré l'attention sur les noyaux du syncytium vitellin qui se formait, chez ces organismes, entre la partie segmentée ou disque embryonnaire et la partie purement nutritive de l'œuf. Ils n'avaient cependant pas réussi à donner une explication précise de leur origine et les avis étaient très partagés.

Rückert reprit l'étude de la question en s'adressant, cette fois, aux tous premiers stades du développement. Il a réuni l'ensemble de ses observations dans un important mémoire (99), qui mit en lumière une quantité de faits du plus haut intérêt. Grâce à de méticuleuses observations, Rückert établit la réalité de la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans l'œuf de *Torpedo* et de *Pristiurus* ; chacun de ces spermatozoïdes se transforme en pronucleus mâle et, pendant tout un temps, rien ne les distingue l'un de l'autre ; à un certain moment et pour des raisons de hasard, on voit le pronucleus femelle s'unir à l'un deux seulement. Dès lors, entre le le spermatozoïde copulant, fécondant au sens le plus étroit de ce mot, et les autres, apparaîtront progressivement une série de différences. Le premier seul, par la part directe qu'il prend à la formation du noyau de segmentation, concourt à l'édification des organes de l'embryon ; les autres pronuclei mâles restent isolés, dans le voisinage immédiat ou à quelque distance du noyau de segmentation. Mais bientôt se produit un phénomène curieux : par l'intermédiaire de leurs centrosomes qui entrent progressivement en activité, les noyaux spermatiques s'écartent les uns des autres et s'écartent du noyau de segmentation ; celui-ci prend de plus en plus d'importance ; les irradiations de son centrosome s'étendent progressivement à la totalité, ou presque, du disque germinatif dont, par le fait même, les noyaux spermatiques finissent par être exclus. Les spermato-

zoïdes qui se trouvent ainsi écartés de la partie à proprement parler " embryonnaire „ de l'œuf méroblastique, par le seul fait de l'activité des centrosomes qu'ils y ont apportés, ne se sont pas moins divisés synchroniquement avec le noyau de segmentation. Mais ces divisions, des mitoses normales d'ailleurs, se passent non plus dans le disque germinatif, comme celles du noyau amphimixique, mais en dehors de lui, dans le vitellus à grains fins, et leur résultat est bien différent : à part de très rares exceptions, aucune division cellulaire ne leur fait suite ; les noyaux qui prennent ainsi naissance et qui sont donc d'origine purement spermatique, se disséminent dans la partie de l'œuf qui reste indivisée, la transforment en un syncytium, le syncytium vitellin. On s'accorde généralement à reconnaître à celui-ci un rôle important dans la nutrition de l'embryon ; mais il n'entre pas directement dans sa constitution, de telle sorte que la dénomination de „ *spermatozoïdes accessoires* „ (Nebenspermatozoon) pour désigner ceux qui ne copulent pas et se bornent à former les noyaux vitellins, se justifie tout autant que celle de " spermatozoïde principal „ (Hauptspermatozoon), qui ne s'applique qu'au seul spermatozoïde copulant.

Le travail de Rückert démontre que les spermatozoïdes accessoires entrent dans la constitution du syncytium vitellin des œufs méroblastiques et jouent un rôle essentiel dans la nutrition de l'embryon ; il nous donne en même temps une conception extrêmement précise de la polyspermie physiologique, conception sur laquelle cet auteur est revenu, tout récemment, dans un intéressant article de critique (1910).

Ainsi que Oppel l'a démontré le premier (92), la polyspermie physiologique existe également chez les Reptiles. Plus tard, Nicolas (1900-03-04) et Ballowitz (03a-03b) donnent de cette polyspermie une description un peu différente de celle de Rückert. Chez les Reptiles, la même exclusion des spermatozoïdes accessoires de la formation de l'embryon se produit bien, mais elle semble être moins complète ; leurs divisions amènent l'isolement plus ou moins complet de quelques petites

cellules vitellines, situées tantôt à la surface, tantôt dans la profondeur de l'œuf, et qu'il n'est pas rare de voir se mêler aux cellules de l'embryon lui même, sans qu'on ait pu, jusqu'ici, préciser leur évolution ultérieure. Les autres phénomènes qui accompagnent la fécondation sont les mêmes que chez les Sélaciens ; aux " Verdichtungszonen „ de Rückert répondent les " territoires péri-nucléaires „ de Nicolas ; ce sont, dans les deux cas, les manifestations visibles de l'activité des centrosomes spermatiques.

Il est intéressant de constater que dans l'autre classe du groupe des Sauropsides, chez les Oiseaux, la polyspermie physiologique a été observée par Harper (02) et par Blount (07) chez le Pigeon. Tout récemment, enfin, Patterson (1910) a publié une étude de la fécondation de l'œuf de la Poule, où la polyspermie se montre sensiblement avec les mêmes caractères que chez les Sélaciens.

Dans ces trois groupes d'organismes : Sélaciens, Reptiles e Oiseaux, la polyspermie physiologique revêt, à part de légères différences dans les détails, un aspect uniforme. Il importe d'en définir les caractères généraux : elle se produit dans des œufs qui, tous, sont méroblastiques ; elle existe toujours ; un seul spermatozoïde copule, mais les autres continuent à se diviser ; ils jouent un rôle actif dans la nutrition de l'embryon, mais sont exclus du disque germinatif. Nous allons voir qu'il existe d'autres animaux chez qui la polyspermie n'influe en rien sur le développement normal, mais nous ne trouverons plus jamais la *réunion* des caractères qui donnent à celle des Sélaciens, des Reptiles et des Oiseaux une frappante uniformité. Aussi croyons-nous que c'est à cette dernière seulement qu'il faut réserver la dénomination de *polyspermie physiologique* ; ce n'est que chez ces organismes qu'elle apparaît comme un phénomène constant, nécessaire, de l'ontogenèse et imprime à celle-ci une allure particulière, certainement, mais normale. Dans un travail tout récent, J. Rückert (1010) conclut aussi à la nécessité de faire un groupe bien distinct, au point de vue de la polyspermie, des œufs méroblastiques typiques.

Avec les observations relatives aux Amphibiens Urodèles, nous abordons une modalité bien différente de la polyspermie. Il résulte des travaux de Van Bambeke (70-76-80), de Fick (93), de Grönroos (95), de Gasco (94), de Braus (95), de Michaelis, (97), de Jenkinson (05), que chez *Triton*, chez l'Axolotl, plusieurs spermatozoïdes pénètrent dans l'œuf au moment de la fécondation. Van Bambeke, Grönroos et Michaelis avaient remarqué qu'en général leur nombre est peu considérable et dépasse rarement quatre ou cinq. Jenkinson conclut de même, mais constate, en outre, que la polyspermie chez l'Axolotl, n'est pas absolument constante, sans que le développement de l'œuf subisse de ce fait la moindre modification. Mais où les différences deviennent plus profondes entre les Amphibiens Urodèles et les Sélaciens, les Reptiles ou les Oiseaux, c'est dans la façon de se comporter des différents spermatozoïdes qui peuvent pénétrer dans l'œuf ; nous avons bien encore la copulation du pronucleus femelle avec un seul d'entr'eux, mais, dès ce moment, le rôle des spermatozoïdes accessoires devient purement négatif ; ils ne se divisent pas, ou très rarement et par division directe, d'après Braus ; leur centrosome provoque à peine l'apparition de quelques irradiations, puis dégénère ; au bout de quelques heures, toute trace de la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans l'œuf disparaît. A l'exception du seul spermatozoïde copulant, tous se comportent donc comme des corps étrangers ; le seul rapprochement qu'on puisse faire avec la polyspermie des Sélaciens, c'est que, comme celle-ci, elle est inoffensive et n'imprime aucun caractère pathologique au développement.

Il résulte des travaux de Henking (90-92), de Blochmann (87-89), que la polyspermie se rencontre chez toute une série d'insectes, avec des caractères identiques à ceux que nous venons de voir : elle est inconstante, inoffensive ; un seul spermatozoïde copule ; les spermatozoïdes accessoires dégénèrent sans jouer aucun rôle appréciable. Chez un Arachnide, *Theridium*, Montgommery (08) observe la même chose.

Chez les Insectes comme chez les Amphibiens Urodèles, la

polyspermie n'a donc plus du tout la signification d'un phénomène physiologique; qu'elle existe ou qu'elle n'existe pas, l'œuf se développe toujours normalement, il s'agit ici d'un simple accident et d'un accident qui n'a aucune importance. Le terme de *polyspermie facultative*, proposé par Henking pour les insectes, convient donc parfaitement.

Il y a encore d'autres organismes chez qui la polyspermie est la règle. Seulement elle revêt ici des caractères spéciaux qui la différencient nettement de la polyspermie physiologique aussi bien que de la polyspermie facultative. Chez les Bryozoaires, par exemple, Kr. Bonnevie (07) observe la pénétration d'un nombre énerme de spermatozoïdes dans l'œuf; mais il importe de faire remarquer que ces spermatozoïdes semblent ne pas même se transformer en pronuclei mâles; ils disparaissent rapidement et tout se passe comme s'ils servaient à la nourriture de l'œuf; nous n'insisterons pas ici sur l'interprétation que donne Bonnevie de ses observations.

Un phénomène assez comparable a été décrit par Iwanzoff (97) chez l'Holothurie; ici, l'œuf se laisse pénétrer par de nombreux spermatozoïdes bien avant sa maturité; mais aucun d'eux ne se transforme en pronucleus mâle et ils sont absorbés rapidement par le protoplasme ovulaire. Lorsque l'œuf arrive à maturité, il est fécondé par un seul spermatozoïde, comme normalement, et ce curieux phénomène cesse aussitôt.

Rappelons enfin que chez *Distomum*, Henneguy (02) voit les cellules vitellines absorber également de nombreux spermatozoïdes.

Ces trois derniers exemples présentent donc des analogies évidentes entr'eux : la polyspermie se réduit ici à un phénomène de nutrition un peu spécial, mais qui est étranger à la fécondation proprement dite.

Dans tout ce que nous avons vu jusqu'ici, il importe de mettre en relief deux points : 1°) un seul spermatozoïde, le spermatozoïde principal, s'unit au pronucleus femelle pour former le noyau de segmentation; 2° quels que soient leur nombre et leur évolution, les spermatozoïdes accessoires n'ont

aucune influence sur le développement, qui se poursuit normalement et sans aucun phénomène pathologique. Ce sont les caractères propres à la polyspermie inoffensive; on la rencontre chez les organismes à œufs " méroblastiques typiques „ Rückert (1910) ou " holoblastiques riches en deutoplasme „ (Rückert 1 l. c.).

Chez les premiers, Sélaciens, Reptiles, Oiseaux, la polyspermie est constante et les spermatozoïdes accessoires, sans intervenir dans la fécondation proprement dite, se transforment en pronuclei mâles, se divisent et deviennent des noyaux du syncytium vitellin.

Chez les seconds, Amphibiens urodèles, Insectes, elle est inconstante (1), les spermatozoïdes accessoires ne se divisent pas (2), dégénèrent et ne jouent aucun rôle en tant qu'individus cellulaires.

* *
*

Avant de parler de la polyspermie expérimentale proprement dite et étudiée pour elle-même, on pourrait mentionner un très grand nombre de travaux, se rapportant à d'autres questions, mais où la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans un œuf *normalement monospermique* est citée, à titre d'incident, au cours des recherches.

Contrairement à ce qui se passe pour les Urodèles, il semble définitivement établi, aujourd'hui, que les Amphibiens anoures sont monospermiques. Von Kupffer (82), chez *Bufo*, avait cru à l'existence d'une polyspermie sinon constante, du moins fréquente et sans influence nocive sur le développement. Mais il résulte des minutieuses observations de Van Bambeke (80), de H. Dean King (01) que celles de cet auteur étaient sans doute erronées et que la polyspermie chez Bufo doit être considérée comme accidentelle et pathologique. Aucun des très nombreux auteurs qui ont étudié l'embryologie des Anoures ne signale

(1) Sous réserves en ce qui concerne certains Amphibiens urodèles.

(2) Sous réserve des observations de Braus (95) qui n'a, d'ailleurs, jamais vu qu'une division amitotique.

d'ailleurs la polyspermie autrement que comme une anomalie, liée à un développement pathologique. A plusieurs reprises, au cours de ces recherches, j'ai examiné soigneusement des pontes naturelles de *Rana fusca*, sans jamais y rencontrer un seul œuf présentant les caractères très spéciaux de la polyspermie chez cette espèce.

Lorsqu'on examine au contraire des œufs de grenouille fécondés artificiellement, il est assez fréquent d'y rencontrer des œufs polyspermiques. L'observation en a été faite souvent et quelques travaux doivent être rappelés ici comme particulièrement intéressants. Le premier de tous est celui de Newport (51). Cet auteur avait pour but de démontrer la nécessité de la présence de spermatozoïdes dans le liquide spermatique chez la grenouille, pour que les œufs soient fécondés ; après une série d'expériences minutieuses, faites avec du sperme filtré, Newport rechercha au contraire l'influence de liquides spermatiques de concentrations différentes. Sans s'en douter, il fit alors exactement, avec du sperme très concentré, " Were gorged with spermatozoa „, toute une série d'expériences de polyspermie ! Il s'étonna de voir que les œufs ainsi fécondés succombaient rapidement, après avoir présenté une segmentation multiple d'emblée (" the divisions of the yolk were multiplied „), ce qui est très caractéristique chez les œufs de grenouille à polyspermie forte.

De pareilles segmentations anormales de l'œuf de grenouille (*Rana fusca* et *R. esculenta*), de *Pelobates fuscus*, ont été à plusieurs reprises observées par la suite, notamment par Pflüger (81) et par Born (86) qui les décrit en détail et les nomme des " Barokfurchungen „, en les attribuant à une polyspermie accidentelle et due, d'après lui, à ce que les œufs avaient été fécondés avant leur maturité. O. Hertwig (92), également, cite plusieurs cas — Knospenfurchung — de polyspermie chez la grenouille et insiste sur l'intérêt qu'il y aurait à les étudier en détail. Roux (95) établit un rapport entre la polyspermie accidentelle et une surmaturité des œufs, à la fin de la période du frai.

Dans l'une de ses études sur les rapports entre le développement normal et le développement anormal de l'œuf de grenouille, Morgan (04) donne une description assez précise de deux œufs dispermiques qui s'étaient segmentés de façon anormale et dont il a fait des coupes sériées. L'observation est intéressante parce que Morgan reconnaît, par le même moyen que nous, que ces œufs sont réellement dispermiques: l'existence, à l'intérieur de l'œuf, de deux de ces traînées pigmentaires, dont Van Bambeke, Born (92), O. Hertwig (98), Roux (95), Fick (93) ont établi la signification et qui indiquent le chemin parcouru par le noyau spermatique, dans l'œuf de la plupart des Amphibiens (1).

Des cas de polyspermie accidentelle ont été signalés chez *Amphioxus*, par Van der Stricht (95); chez différentes espèces d'Echinodermes, par de nombreux observateurs, soit dans l'œuf entier, Fol (79), O. Hertwig (75-77-78), H.-D. King (06), etc., soit dans des fragments, lors d'expériences de mérogonie, O. et R. Hertwig (87), Boveri (96), Morgan (03); en étudiant la fécondation chez l'*Ascaris mégalocéphale*, Ed. Van Beneden (83) observe six cas de dispermie et se demande ce qu'il serait advenu dans la suite du développement de ces œufs.

Zur Strassen (96-99) et Herla (95) ont fait des observations analogues.

Plus importants sont les travaux de Driesch (92), de Doflein (97), de Morgan (95), de Teichmann (03), de Baltzer (09); ces auteurs ont utilisé les particularités de la segmentation des œufs dispermiques d'*Echinus*, de *Strongylocentrotus*, etc., pour l'étude de la division cellulaire en général. Nous aurons à revenir sur leurs observations.

L'énumération que nous venons de faire des principales observations d'œufs polyspermiques suffirait à montrer, *a priori*, combien ces phénomènes peuvent présenter d'intérêt au

---

(1) « Near the top of the large blastomere there are two paths of pigment that appear to indicate that two spermotozoa have entered the egg. »

point de vue du mécanisme même de la fécondation normale. On s'étonne, dès lors, que les recherches visant à une étude systématique, détaillée, de la polyspermie et à une analyse précise tant de ses causes que de ses conséquences sur le développement de l'œuf, soient extraordinairement peu nombreuses. Le fait est d'autant plus inattendu, aussi, que les auteurs dont le nom est indissolublement lié à cette étude, O. et R. Hertwig, Th. Boveri, en ont tiré des conclusions d'une importance capitale et d'application immédiate non seulement à la polyspermie elle même, mais aussi à une quantité de problèmes variés se rapportant à l'hérédité, à la dynamique cellulaire, aux fonctions du noyau, du protoplasme et à leur rapports.

Le beau travail d'O. et R. Hertwig, publié en 1887, est bien connu, non pas tant au point de vue qui nous occupe, que par la belle démonstration qu'il contient de la sensibilité des cellules sexuelles aux anesthésiques et, en particulier, de l'action inhibitrice de ces corps sur l'irritabilité du protoplasme ovulaire lors de la fécondation. Fol (83), déjà, avait parfaitement observé sur l'œuf vivant et décrit la formation entre le vitellus et sa membrane, d'un espace dit " espace périvitellin „, apparaissant en premier lieu là où le spermatozoïde avait pénétré et dont l'extension progressive avait pour effet de créer un obstacle infranchissable à la pénétration des éléments mâles venus, par la suite, en contact avec l'ovule. En fécondant des œufs trop ou pas assez mûrs, ou provenant de femelles malades (79), ou en soumettant des œufs bien sains et mûrs à l'action de l'anhydride carbonique, Fol (83) obtint la pénétration de deux, trois spermatozoïdes et plus et vit que, dans ces conditions, la membrane vitelline ne se forme pas ou se forme beaucoup plus lentement. Fol suivit l'évolution de ces œufs surfécondés et les aurait vu donner naissance à des gastrulas doubles ou triples, c'est-à-dire présentant deux ou trois invaginations.

Par leurs expériences, O. et R. Hertwig ont démontré que cette formation d'un espace périvitellin était une " réaction „ de l'œuf à l'excitation produite par la pénétration du spermatozoïde ; les substances chimiques qu'ils utilisèrent, et parti-

culièrement l'hydrate de chloral, le chloroforme, la morphine, en obnubilant l'irritabilité de l'ovule, permettaient d'obtenir d'une façon constante la pénétration de plusieurs spermatozoïdes avant que cette réaction ne se manifeste.

Les observations de Fol étaient ainsi confirmées ; en outre, O. et R. Hertwig avaient découvert une méthode permettant d'obtenir à coup sûr des œufs surfécondés et, par là, le moyen de faire une étude systématique et *expérimentale* de la polyspermie.

Avec beaucoup plus de présision que Fol, ils en ont étudié l'influence sur le développement des œufs d'oursin et leurs observations sont très importantes. D'une façon générale, ce *développement est complètement pathologique* et ne va jamais bien loin, ce qui, du premier coup, met bien en évidence une différence essentielle entre la polyspermie physiologique et celle qu'on peut obtenir artificiellement chez des espèces normalement monospermiques. Contrairement à Fol, O. et R. Hertwig n'ont pas observé de gastrulas doubles ou triples ; nous n'entrerons pas dans le détail de la discussion relative à ce point. Cependant, en ce qui concerne l'Etoile de Mer (*Asterias*), les expériences de Fol doivent être reprises ; l'existence de ces gastrulas doubles ou triples est un fait, mais il faudrait rechercher avec précision si les œufs dont elles proviennent sont *toujours* des œufs surfécondés.

O. et R. Hertwig ne se sont du reste pas bornés à étudier l'ensemble du développement des œufs surfécondés ; par l'examen de préparations fixées et colorées, ils ont aussi débrouillé les détails de la fécondation multiple et sont arrivés à cette conclusion que, suivant l'intensité ou la durée de l'action inhibitrice de l'hydrate de chloral, du chloroforme ou de la morphine, on obtient la pénétration d'un nombre plus ou moins grand de spermatozoïdes dans l'œuf. Lorsqu'il n'y en a que deux ou trois, chacun d'eux se comporte exactement comme le spermatozoïde unique de la fécondation habituelle ; tous deux ou tous trois vont s'accoler au pronucleus femelle puis, d'après

O. et R. Hertwig, se fusionner avec lui pour former un noyau unique volumineux. Mais chaque élément mâle apporte avec lui un centrosome et, chacun de ces centrosomes se divisant comme dans la fécondation normale, il en résulte la formation d'une figure mitosique compliquée, tétra ou hexapolaire. A cette mitose multiple fait suite une division de l'œuf d'emblée en quatre blastomères ou plus, souvent de tailles très variables.

Lorsque le nombre des spermatozoïdes devient plus grand, quelques uns seulement copulent avec le pronucleus femelle et les autres, restés libres dans le protoplasme de l'œuf, s'y divisent pour leur propre compte. Ces mitoses, ou tout au moins le plus grand nombre d'entre elles, déterminent une segmentation du vitellus. A ces plans de division s'ajoutent ceux provoqués par la mitose polycentrique du noyau complexe, formé par le pronucleus femelle uni à un nombre variable de pronuclei mâles ; il en résulte une division multiple de l'œuf en toute une série de blastomères qui peuvent être très inégaux, et contenant souvent plusieurs noyaux d'origines, de dimensions et de qualités variées.

Copulation de plusieurs pronuclei d'une part, division de pronuclei mâles d'autre part et formation de blastomères multiples avec protoplasme ovulaire et noyau purement spermatique, telles sont les observations qui donnent à ce travail d'O. et R. Hertwig un intérêt de premier ordre.

Th. Boveri a réussi, en appliquant des méthodes plus rigoureuses et en se bornant à l'étude des seuls œufs dispermiques, à analyser ces phénomènes d'une façon encore plus détaillée et plus féconde au point de vue des comparaisons à établir avec le développement normal. Il a également choisi comme matériel les œufs d'oursin (*Strongylocentrotus et Echinus*). Cependant, dès 1904, Boveri publia, en collaboration avec N. M. Stevens, une étude de la dispermie chez un autre organisme : *l'Ascaris*.[1]

[1]) Nous reviendrons sur ce travail dans nos conclusions générales.

Nous avons rappelé plus haut que Van Beneden, déjà, avait observé quelques cas de dispermie chez ce nématode, mais sans en faire d'étude détaillée. Plus tard, en 1895, Sala fit quelques essais de polyspermie expérimentale chez l'*A. megalocephala*, mais sans obtenir de résultats vraiment importants. Le travail de Boveri et Stevens est une étude de cas identiques à ceux que décrit Van Beneden : division en quatre blastomères d'emblée, égaux ou non, segmentation irrégulière et mort rapide des œufs.

Quelques communications préliminaires précédèrent le travail réellement fondamental que Boveri publia en 1907 sur le développement des œufs dispermiques d'oursin. Nous en rappellerons brièvement les points les plus importants.

Boveri établit l'existence de deux groupes principaux d'œufs dispermiques, suivant la façon dont s'opère la copulation des pronuclei et la première division. Le cas le plus simple, vraiment schématique, et, aussi, le plus fréquent, est celui où les deux pronuclei mâles ayant copulé avec le pronucleus femelle, il en résulte la formation d'une mitose tétrapolaire et la division de l'œuf en quatre blastomères. Il arrive assez fréquemment qu'un seul des centrosomes apportés par les deux spermatozoïdes se divise ; dès lors il se forme une figure tripolaire, amenant la segmentation de l'œuf en trois blastomères seulement. Beaucoup plus rares sont les cas où aucun des deux centrosomes ne se divise ; c'est ce que Boveri appelle le " Doppelmonastertypus ".

L'essentiel est que dans tous ces cas, les deux pronuclei mâles se sont fusionnés avec le pronucleus femelle. Dans le deuxième groupe d'œufs dispermiques, il n'en est plus de même : un seul spermatozoïde s'unit à celui-ci pour former un noyau amphimixique typique, semblable à celui de la fécondation normale ; l'autre reste isolé dans le vitellus et comme O. et R. Hertwig l'avaient déjà constaté, se divise pour son propre compte. Lors de la division, deux fuseaux absolument indépendants prennent naissance dans le même œuf, d'où le le nom de *Doppelspindeltypus*, que Boveri donne à ce genre

de dispermie, qui se rencontre, assez rarement d'ailleurs, chez l'oursin. Ces deux fuseaux sont orientés parallèlement, d'une façon constante, dans les observations de Boveri, et l'œuf se divise en deux blastomères suivant un plan unique qui coupe perpendiculairement l'axe des figures de division. Nous n'insisterons pas davantage ici sur cette division. Le *Doppelspindeltypus* est celui qui, pour nous, a le plus d'importance et nous aurons suffisamment l'occassion de revenir sur ce point.

Ayant ainsi déterminé les différentes façons dont peut se présenter la fécondation des œufs dispermiques, Boveri en étudie l'évolution et en fait une remarquable analyse. Il ramène toutes les anomalies qui se présentent au cours du développement, aux variations que le hasard des mitoses tri- ou tétrapolaires amènent dans le partage de la chromatine entre les premiers blastomères ; il conclut de là à la potentialité individuelle des chromosomes et à leur rôle capital dans la transmission des caractères héréditaires. Boveri arrive à ce résultat par deux moyens : l'étude de l'évolution séparée de chaque blastomère, isolé après la première division, et la détermination de ce qui, dans un embryon complet, revient à chacun d'eux. La répartition des noyaux, dont les dimensions variables répètent les inégalités qui se sont produites dans le partage de la chromatine, permet cette délimitation.

Il serait trop long de suivre Boveri dans la suite de ses déductions et ce que nous en avons dit suffit à montrer combien est féconde la voie inaugurée par O. et R. Hertwig. Sans entrer dans le détail des innombrables anomalies qu'il décrit, nous insisterons encore une fois sur le caractère essentiellement pathologique du développement des œufs dispermiques, sur le taux très élevé de la mortalité, dès les premiers stades et surtout chez les œufs du type *Tetraster*. Aucun ne dépasse le stade *pluteus*, auquel un très petit nombre d'œufs arrivent.

Dans le travail de Boveri comme dans celui d'O et R. Hertwig, la polyspermie expérimentale apparaît donc comme un puissant moyen d'analyse de la fécondation normale et des problèmes variés et importants qui s'y rattachent. Mais il n'est

question, dans ces deux travaux, que des œufs d'Echinodermes. Il était donc intéressant de voir comment se comporteraient ceux d'autres espèces ; il va de soi aussi, que pour que ce genre de recherches porte tous ses fruits, il est nécessaire de ne s'adresser qu'à des organismes dont le développement *normal* est parfaitement connu.

L'œuf de *Rana fusca*, par la variété des problèmes que son étude a soulevés et par l'abondance des documents que l'on possède sur les moindres détails de son évolution, se prête admirablement aux expériences de polyspermie. D'ailleurs, ainsi que nous l'avons vu, les observations de Born, d'O. Hertwig avaient déjà attiré l'attention sur les particularités de la segmentation des œufs polyspermiques de grenouille. Mais il ne s'agissait là nullement d'une étude systématique et, en particulier, la preuve restait à faire que la " segmentation baroque „ de Born était réellement et uniquement la conséquence de la polyspermie.

Ce premier point essentiel a été définitivement établi par Brachet (1910 *a*), qui décrit en détail et en s'aidant de coupes sériées et colorées, la pénétration effective d'un certain nombre de spermatozoïdes dans l'œuf de *Rana fusca* fécondé artificiellement, à l'aide de liquide spermatique très concentré (V. la partie technique pour les détails). Brachet observe ensuite la transformation de chacun d'eux en pronucléus mâle typique, l'apparition, autour de chaque noyau mâle, d'une zone irradiée due à l'activité croissante du centrosome spermatique; il observe qu'entre ces zones ou " énergides spermatiques „ se produisent des réactions, des mouvements de répulsion, qui amènent l'écartement progressif des pronuclei mâles, absolument comme dans l'œuf de Sélacien, où ce phénomène a été décrit par Ruckert (99) ; il observe enfin la copulation du pronucléus femelle avec un seul des spermatozoïdes qui ont pénétré dans l'œuf, la division mitosique du noyau de segmentation ainsi formé et celle de chacun des noyaux spermatiques accessoires, tout cela exactement comparable à ce qui se passe chez les Sélaciens. Mais à partir de ce moment apparaissent de

profondes différences ; il n'y a pas, dans l'œuf de *Rana fusca*, de disque germinatif : malgré l'abondance du vitellus qu'il contient, l'œuf entier prend part ici à la formation de l'embryon ; il ne peut être question, par conséquent, d'une exclusion des spermatozoïdes accessoires en dehors de la zone embryogène et lorsqu'ils se divisent, ces divisions ont, pour l'œuf, la même importance que celles du noyau de segmentation et entraînent, au même titre, sa division en blastomères, dont le nombre correspond à celui des spermatozoïdes qui ont pénétré. La polyspermie est donc réellement la cause des Barokfurchungen observées par Born.

Mais ce que nous venons de voir ne s'applique qu'aux œufs de *Rana* moyennement polyspermiques, c'est-à-dire ceux qui n'ont laissé pénétrer qu'une douzaine de spermatozoïdes au plus. Lorsque ce nombre est plus considérable (il peut dépasser la centaine) Brachet observe qu'il n'y a plus de rapport entre le nombre des spermatozoïdes et celui des blastomères. La segmentation devient complètement irrégulière. Mais ces œufs n'en sont pas moins intéressants. En les étudiant, Brachet a pu démontrer, entr'autres, que ces répulsions entre les pronuclei mâles ne se produisent que lorsque les centrosomes spermatiques sont entrés en activité avant ce moment, et s'ils sont suffisamment rapprochés l'un de l'autre, ils s'attirent au lieu de se repousser, et copulent. Cette copulation de pronuclei mâles est d'un intérêt assez évident pour qu'il soit inutile d'insister sur l'importance de cette observation au point de vue des phénomènes de la fécondation normale.

Dans une seconde étude, Brachet (1910) décrit l'influence de la polyspermie expérimentale sur le développement de l'œuf de *Rana fusca*. Ce développement se poursuit plus ou moins loin, peut même atteindre 10 jours ; nous ne pouvons songer à résumer ici les nombreuses observations auxquelles il donne lieu. Il est un point cependant sur lequel je dois insister ; à des degrés divers, mais d'une façon constante, ce développement est pathologique ; chez *Rana fusca* comme chez les Echinodermes, la polyspermie est nuisible et incompatible avec une ontogenèse normale.

Le moment est venu de résumer l'état de nos connaissances sur la polyspermie, de confronter les faits et de les grouper pour en tirer une conclusion générale.

Tout ce que nous avons vu conduit d'abord à cette remarque que, suivant les espèces, la polyspermie est inoffensive ou nuisible. Cette constatation doit servir de base à une classification des faits.

La polyspermie inoffensive se rencontre seule dans les conditions absolument normales et peut se présenter sous deux aspects :

a) *La polyspermie physiologique vraie*, qui est constante et combinée à une évolution bien déterminée des spermatozoïdes accessoires : Sélaciens, Reptiles, Oiseaux.

b) *La polyspermie facultative*, inconstante, caractérisée par le rôle absolument négatif joué par les spermatozoïdes acccessoires : Amphibiens urodèles, Insectes.

Ces deux modalités de la polyspermie ont ceci de commun, que le noyau de segmentation reste formé, comme dans l'œuf normal, de la réunion du pronucleus femelle avec un seul pronucleus mâle. Un seul spermatozoïde remplit par conséquent *tous* les buts (ou tous les rôles) de la fécondation. *Il n'y a donc pas ici polyfécondation.*

Au contraire, le résultat de toutes les expériences de polyspermie artificielle, chez des espèces normalement monospermiques, conduit à admettre qu'il y a ici polyfécondation, en ce sens que ni chez les Echinodermes, ni chez la Grenouille, nous ne voyons un seul spermatozoïde assumer *à la fois* tous les rôles de la fécondation. Mais il y a deux degrés dans ce processus : chez les Echinodermes, à l'exception du " Doppelspindeltypus ", il y a toujours plus d'un seul spermatozoïde copulant ; chez la grenouille, la participation à la formation du noyau de segmentation reste l'apanage de l'unique spermatozoïde principal, mais, dans les deux cas, les spermatozoïdes accessoires ont chacun leur part dans les phénomènes dynamiques de la fécondation et dans toutes leurs conséquences.

Il faut donc distinguer dans la polyfécondation :

a) *La polyfécondation totale*, telle qu'elle se présente chez les Echinodermes, toujours exception faite du " Doppel spindeltypus „ et chez l'Ascaris.

b) *La polyfécondation partielle*, où un spermatozoïde garde encore une prépondérance sur les autres en entrant seul dans la constitution du noyau de segmentation : *Rana*, *Echinus* " Doppel spindeltypus. „

Mais qu'elle soit totale ou partielle, la polyfécondation a pour caractère général d'être *nuisible*.

* *
*

Le présent travail a pour but l'étude des œufs di- et trispermiques de *Rana fusca*. Plusieurs raisons, qu'il est inutile de préciser ici, la suite de notre étude les faisant connaître suffisamment, motivent l'étude séparée des œufs seulement di- ou trispermiques et celle des œufs polyspermiques. Tandis qu'il se limitait lui-même à l'étude de ceux-ci, M. Brachet voulut bien me confier celle des premiers.

Avant d'en commencer la description, je dois prévenir le lecteur qu'un travail sur les œufs surfécondés ne peut ni se borner à la simple étude des conséquences directes de la polyfécondation, ni prétendre à envisager tous les problèmes que cette étude soulève. La pénétration d'un second spermatozoïde (ou de plusieurs) dans un œuf comme celui de *Rana fusca* constitue, à proprement parler, une véritable expérience sur la fécondation normale, dont on modifie en effet l'une des conditions les plus importantes : la monospermie.

Mais une expérience portant sur l'acte dont dépend toute la suite du développement d'un organisme, conduirait évidemment fort loin celui qui voudrait en analyser toutes les conséquences ; il aurait en réalité à passer en revue l'Embryologie entière. Les travaux d'O et R. Hertwig, de Boveri, de Brachet démontrent surabondamment la variété des questions que posent les œufs rendus artificiellement polyspermiques, en dépit même de la courte durée de leur développement.

Dans un domaine aussi vaste, malgré l'apparente simplicité

du point de départ, il faut donc se limiter et choisir un certain nombre de problèmes dont, pour les raisons les plus diverses : technique, documents bibliographiques etc., la solution semble plus accessible ou plus importante. Il ne faudra donc pas s'étonner si, dans ce travail, certains points sont démesurément développés et d'autres laissés de côté ; j'ai suivi simplement la succession des phénomènes du développement, en l'abandonnant momentanément chaque fois qu'ils donnaient l'occasion d'examiner en détail une question connexe ; puis, une fois celle-ci traitée, la description du développement reprend à l'endroit où elle a été laissée.

Ce procédé a, évidemment, le désavantage de rendre le plan d'ensemble du travail assez diffus ; mais c'est le seul qui évite de perpétuelles redites et qui permet, dans une certaine mesure, de rattacher les faits les uns aux autres. Traitée de cette manière, la polyfécondation comporte un certain nombre de conclusions d'ordre général, se rapportant à l'ensemble du travail ; mais, d'autre part, presque chaque chapitre comporte, lui aussi, des conclusions, plus spéciales et plus en rapport avec les questions qu'il étudie particulièrement : pour la clarté de l'exposé, je les ai développées immédiatement, ne laissant pour la fin que les généralités.

Ce travail comporte trois parties :

Dans la première, nous verrons ce qui constitue le " mécanisme „ de la fécondation des œufs di- et trispermiques.

Dans la seconde, le processus de la segmentation, jusqu'au moment de la formation des feuillets germinatifs. C'est, dans le développement des œufs di- et trispermiques, l'une des périodes les plus intéressantes, par les questions qu'elle pose " à côté „ de la polyspermie.

La troisième partie, enfin, sera consacrée à l'étude des embryons, de leur formation, de leur structure, de leurs caractères physiologiques, etc.

Quant à la raison de cette division, nous ne l'exposerons pas ici, la suite du travail démontrant suffisamment ses avantages.

En terminant cette introduction, je suis heureux de pouvoir

présenter ici l'expression de mes sentiments de bien vive gratitude à M. le Professeur Brachet, pour l'aide et les bienveillants conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer pendant mon long séjour dans son laboratoire, et aussi pour l'intérêt qu'il a bien voulu me témoigner en me confiant une grande partie de l'objet même de ses propres recherches.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nous avons rappelé plus haut que O. et R. Hertwig avaient trouvé un procédé pratique et sûr d'obtenir des œufs polyspermiques, en appliquant les propriétés anesthésiantes de certaines substances, et, en particulier, de l'hydrate de chloral.

Cependant, depuis la publication de leur travail, plusieurs auteurs, et O. Hertwig lui même, ont expérimenté l'action de nombreux agents chimiques ou physiques sur le développement de l'œuf et ont étudié les anomalies qui peuvent en résulter. Par le fait même, la méthode par anesthésie manque de précision, en ce sens qu'il est impossible de dire si les anomalies qui se présentent sont dues à la polyspermie seule, à l'action des narcotiques ou à une combinaison de ces deux facteurs.

Th. Boveri, qui a attiré l'attention sur cette difficulté technique (07), a établi que, pour les Echinodermes, il était inutile de faire subir aucune manipulation aux œufs, si on avait soin de prendre un liquide spermatique suffisamment riche en spermatozoïdes, fait déjà démontré indirectement pour la grenouille par Newport (51). La polyspermie, plus ou moins forte, se produit alors suivant un mécanisme très simple : deux ou plusieurs spermatozoïdes peuvent se présenter en même temps à la surface de l'œuf et y pénétrer, avant que la membrane vitelline ait eu le temps de créer l'obstacle que l'œuf oppose normalement à une pénétration multiple. A aucun moment, par conséquent, les œufs ne cessent de se trouver dans leurs conditions habituelles d'existence.

Voici comment nous avons procédé : le mâle étant séparé de la femelle et immédiatement décapité, on enlève avec une fine pince et en quelques coups de ciseaux les deux vésicules séminales turgescentes et on les dépose, aussi rapidement que possible, dans un petit cristallisoir contenant quelques centi mètres cubes d'eau distillée additionnée de chlorure de sodium dans la proportion de deux et demi pour mille.

Ce sel est ajouté à l'eau distillée dans le but de fournir aux spermatozoïdes un milieu dont la pression osmotique se rapproche de celle qu'ils rencontraient à l'intérieur du corps de l'animal ; la fécondation artificielle est rendue ainsi plus aisément réalisable et réussit à coup sûr. Roux (95) qui a attiré l'attention des embryologistes sur ce détail de technique, a démontré que la proportion de chlorure de sodium à ajouter ne pouvait varier que dans des limites très étroites : si on dépasse une concentration de 3/4 à 1 pour cent, on obtient régulièrement des œufs polyspermiques. Or, désirant appliquer strictement la méthode de Boveri, nous ne voulions avoir d'autres polyspermies que celles dues à la concentration du liquide spermatique. C'est dans ce but que chacune de nos expériences a été contrôlée par une culture-témoin, pour laquelle quelques gouttes du liquide destiné à la fécondation des cultures polyspermiques étaient étendues d'un grand volume de la même solution de chlorure de sodium, et le tout mis en contact avec les œufs-témoins. Ce n'est que très exceptionnellement et dans quelques cas sur les milliers d'œufs traités ainsi, que l'on pouvait trouver, par ci par là, un œuf polyspermique dans les cultures témoins. Le développement de celles-ci s'est, d'ailleurs, toujours poursuivi normalement.

Deux conséquences importantes doivent en être tirées : 1° la polyspermie des œufs qui font l'objet du présent travail est due uniquement à l'emploi de liquides spermatiques très concentrés ; 2° les anomalies que nous constaterons dans la suite de leur développement seront dues à cette polyspermie seule et nullement à l'action du chlorure de sodium ou de n'importe quels autres facteurs, les cultures polyspermiques et les cultures témoins ayant toujours été placées rigoureusement dans les mêmes conditions d'existence.

Lorsque le liquide fécondant est préparé, on sacrifie la femelle et on prélève deux paquets d'une cinquantaine d'œufs environ, à l'aide d'une spatule bien propre ; on plonge alors vivement l'un dans le sperme concentré, l'autre dans le liquide spermatique dilué destiné aux œufs témoins.

La fécondation de ces derniers étant déjà assurée au bout de cinq minutes de contact, on les retire à ce moment du liquide fécondant, pour les transporter dans de grands cristallisoirs remplis d'eau que l'on renouvelle plusieurs fois par jour. Des cristallisoirs semblables recevront les cultures polyspermiques 20 ou 30 minutes après, ce contact plus long amenant la formation de polyspermies plus nombreuses.

A partir d'une heure après l'imprégnation [1] et jusqu'à la première segmentation, des séries d'une dizaine d'œufs ont été prélevées de demi-heure en demi-heure dans les cultures polyspermiques et fixées en vue d'une étude des détails de la pénétration des spermatozoïdes et de la copulation des pronuclei. Pour la suite du développement nous avons fait des fixations nombreuses des stades les plus caractéristiques, en laissant toutefois un certain nombre d'embryons se développer librement pour voir jusqu'à quel moment ils restaient en vie. De temps en temps aussi, nous avons fixé des témoins normaux destinés à servir de points de comparaison.

Comme fixateur, nous avons employé le liquide de Zenker pour les détails cytologiques et le formol chaud (80°) à 4 °/o pour l'étude des formes extérieures, du plan de symétrie, etc.

Le liquide de Zenker donne de très bons résultats à condition d'enlever avec des ciseaux le plus possible de la gangue gélatineuse qui entoure les œufs ; sans cette précaution, la fixation est très irrégulière et les coupes se colorent très mal. Suivant le procédé indiqué par Kallius (06), ce qui reste de la gangue se détache de soi-même, lorsqu'on laisse agir le fixateur pendant une huitaine de jours en le renouvelant plusieurs fois. L'inconvénient de cette solution est de durcir très fortement les pièces, au point que chaque coupe doit être collodionnée, au moins pour les premiers stades et jusqu'à la gastrulation. Sans cette opération, longue et énervante, les

[1] Il sera entendu une fois pour toutes que nous évaluons *l'âge* d'un œuf ou d'un embryon, en calculant le temps qui s'est écoulé depuis le premier contact entre les œufs et le liquide spermatique. C'est ainsi qu'il faudra comprendre lorsque nous dirons, par exemple, que tel œuf a été fixé à 5 ou 6 heures *après la fécondation*.

œufs se pulvérisent littéralement sous le rasoir. Les embryons plus âgés se coupent au contraire très facilement, sans doute parce qu'on ne doit pas les laisser aussi longtemps en contact avec le fixateur, leur enveloppe n'existant plus au moment de la fixation.

Le formol chaud, préconisé par Brachet (03) et par O. Schultze (99) conserve à merveille la pigmentation de l'œuf et ses formes extérieures. Ici également on débarrasse préalablement l'œuf d'une partie de sa gangue. Après l'action du formol, ce qui en reste est assez facilement enlevé, en décortiquant les œufs avec deux aiguilles bien aiguisées ; il est bon de surveiller l'opération avec une forte loupe montée. Le formol permet encore, dans une certaine mesure, l'étude des noyaux et des figures de division et offre enfin l'avantage d'être un bon liquide de conservation.

Après le traitement au liquide de Zenker, les œufs débarrassés de la gangue sont lavés pendant douze heures à l'eau courante, puis traités par l'iode en solution dans l'alcool à 90°, pendant le même temps, et lavés à l'alcool jusqu'à disparition de l'iode.

Accessoirement, quelques embryons sortis de leur enveloppe ont été fixés les uns au formol froid à 15 pour 100, les autres au liquide de Bouin (formol picro-acétique). Tous deux ont donné de très bons résultats.

Tous les œufs et embryons ont été enrobés à la paraffine et débités en coupes rigoureusement sériées et d'une épaisseur uniforme de 10 microns.

Les colorations, faites sur plaques, ont donné les meilleurs résultats avec l'hématoxyline ordinaire et l'éosine ; il convient pourtant de remarquer que l'hématoxyline colore lentement les pièces fixées au Zenker et doit agir plus longtemps que lorsqu'on a fait usage d'autres fixateurs. Un certain nombre d'œufs ont été montés sans coloration, en vue de l'étude de la pigmentation, et d'autres traités au paracarmin, avec différenciation par l'alcool chlorhydrique à 2 pour 1000.

Mes observations ont été faites sur un total de 286 œufs et embryons.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX.

Pendant les trois premières heures qui suivent l'imprégnation artificielle des œufs, rien ne distingue les cultures polyspermiques des cultures normales. Au contraire, lorsque débute la première segmentation, en moyenne après ce laps de temps, l'aspect des cultures est très différent. Dans les cultures normales, tous les œufs se divisent en deux, à l'exception de quelques-uns, qui n'ont probablement pas été fécondés ; dans les cultures polyspermiques, l'immense majorité des œufs se divise d'emblée en un nombre variable de blastomères, depuis trois jusqu'à la formation de véritables petites morulas, décrites dans le travail de Brachet (1910).

Dans les trente expériences faites en 1909, nous n'avons isolé de ces cultures polyspermiques que les œufs se divisant nettement d'emblée en trois blastomères. L'étude des coupes sériées nous a démontré, sans aucune exception, que ces œufs divisés en trois contenaient trois spermatozoïdes, ainsi que permettait de le conclure l'existence de trois traînées pigmentaires, formations dont nous avons déjà rappelé la signification.

Pour les œufs dispermiques, nous en étions réduits à l'étude du matériel fixé au hasard avant la segmentation et où il s'en trouvait un certain nombre ; mais d'après la disposition des figures de division, nous avions pu conclure (1910) que ces œufs se divisaient en deux blastomères, comme les œufs normaux dont rien, par conséquent, ne pouvait les distinguer sur le vivant. Nous pensions donc qu'il était impossible de les isoler comme nous le faisions si facilement pour les trispermiques et d'en suivre l'évolution.

Par un heureux hasard, il s'est trouvé dans notre matériel un œuf dispermique qui se trouvait précisément divisé en deux et, chose encore plus importante, se préparait déjà à la deuxième division. L'orientation des fuseaux nous permit de conclure que cet oeuf se serait divisé en six, et non en quatre comme les oeufs normaux. En 1910, dans une nouvelle série de

vingt-cinq expériences, nous avons isolé tous les oeufs qui, dans les cultures polyspermiques, se divisaient en deux comme les oeufs normaux. Lors de la deuxième division, la plupart, se divisant en quatre, étaient éliminés comme normaux ; parmi les autres, un grand nombre, comme nous l'avions prévu, se divisaient très nettement en six blastomères (V. fig. 59, pl. XI), et le reste, ceux où cette segmentation manquait de netteté, était éliminé aussitôt pour éviter toute cause d'erreurs.

Beaucoup de ces œufs divisés en six furent aussitôt fixés, enrobés et débités en coupes sériées. Tous, *sans aucune exception*, présentaient deux traînées pigmentaires, étaient donc bien dispermiques. Les autres ont été, dès lors, laissés en vie jusqu'à des stades divers et j'ai pu ainsi obtenir pour les œufs dispermiques la même série que pour les trispermiques ; il suffit donc d'attendre la deuxième division pour les isoler.

Avant d'entreprendre l'étude détaillée des uns et des autres, je dirai encore un mot de leur évolution générale. Dès les premiers stades du développement, pour les dispermiques comme pour les trispermiques, on est frappé du nombre relativement élevé des œufs qui meurent, après avoir manifesté, de façon plus ou moins apparente, des symptômes pathologiques. Par suite des nombreuses fixations que j'ai faites d'œufs et d'embryons parfaitement vivants, il est difficile de préciser le degré de mortalité, comme a pu le faire Th. Boveri (07), pour ses œufs dispermiques d'oursin, en en laissant une centaine se développer librement ; à la première occasion, des essais seront faits dans cette voie, mais les œufs seulement di- ou trispermiques de *Rana* étant toujours peu nombreux dans les cultures, je doute de pouvoir arriver à un résultat aussi précis et qui doit se déduire d'un grand nombre d'observations. Cependant il semble bien que les œufs dispermiques de grenouille soient plus résistants que ceux des Echinodermes, et le chiffre de 50 % d'œufs dépassant le stade gastrula paraît probable.

Pour les stades plus âgés, il n'y a plus de doute. Même pour les œufs ayant reçu 5,10 spermatozoïdes, Brachet (1910*b*) observe des survies de 95,97 heures et même 9 jours. Parmi les œufs trispermiques, bon nombre vivent 5,10,15 jours et l'un

d'eux a été fixé après 54 jours seulement et parce qu'il semblait devenir malade. Si on fait exception d'un cas de survie jusqu'au *92me jour*, les dispermiques ne semblent pas aller plus loin que les trispermiques.

Tous ces embryons présentent des anomalies plus ou moins apparentes, des asymétries, des malformations, des mouvements des attitudes bizarres et d'autres particularités qui seront décrites en détail plus loin ; mais leur vitalité est souvent très satisfaisante et la plupart se nourrissent parfaitement, comme nous l'avons observé plusieurs fois sur le vivant et comme le démontre, également, la présence, constante à partir d'un certain âge, de débris alimentaires dans leur tube digestif : cellules végétales, carapaces de crustacés, de rotifères, de diatomées, etc

PREMIÈRE PARTIE.

LE MÉCANISME DE LA FÉCONDATION DES OEUFS DE GRENOUILLE DI- ET TRISPERMIQUES.

Il semble que la première chose à faire en commençant une étude qui porte ce titre, soit de définir la fécondation, ou, plutôt, de dire quelle est, parmi les nombreuses et très différentes définitions qui existent de ce phénomène biologique, celle qui servira de guide dans le classement des faits que nous allons examiner. Mais cela offre l'inconvénient qu'il faut, en quelque sorte, prendre position, dans cette question si controversée, avant même d'avoir pu apporter les éléments qui motivent un choix aussi difficile. C'est pour cela qu'au lieu de définir la fécondation comme la copulation des pronuclei mâle et femelle, ou comme l'excitation de l'œuf au développement par un spermatozoïde, ou encore autrement, j'ai pris uniquement pour guide la succession des faits que mon matériel peut démontrer.

Dans cette première partie, je décrirai simplement ce qui se passe depuis la pénétration des spermatozoïdes (en disant aussi quelques mots de l'œuf mûr), jusqu'au moment où les pronuclei mâle et femelle s'accolent l'un à l'autre. Je prends ces deux stades, non comme le début et la fin d'un processus, mais comme deux points de repère qui facilitent la description, en permettant de réunir en un seul groupe des phénomènes qui ont entre eux d'incontestables rapports.

CHAPITRE PREMIER.

Maturation des œufs et pénétration des spermatozoïdes.

§ 1er. — Maturation de l'œuf de *Rana fusca*.

Bien que cette question sorte du cadre de cette étude, j'ai cru devoir en parler brièvement pour établir, notamment, la constitution absolument normale des œufs et leur maturité complète au moment de la fécondation. Il est important égale-

ment, au point de vue de la fécondation, de décrire avec quelques détails le pronucleus femelle, sa situation, etc.

La maturation de l'œuf, l'expulsion des globules polaires et la formation du pronucleus femelle ont été suffisamment étudiés chez les Amphibiens urodèles et anoures pour que nous puissions passer très rapidement sur ce point, en renvoyant aux travaux d'O. Schultze (87), Fick (93), Carnoy et Lebrun (1897 à 1900), Born (97), H.-D. King (01). Nos coupes ne nous montrent d'ailleurs que les phases ultimes de ce processus. En effet, Carnoy et Lebrun et O. Schultze ont démontré que, chez la grenouille, le premier globule polaire est expulsé lorsque l'œuf arrive dans l'utérus, puis, après une période de repos dont la durée est variable, l'œuf se prépare à l'expulsion du second au moment de la ponte ou immédiatement avant, de telle sorte que le second globule polaire est complètement formé lors de la pénétration des spermatozoïdes, soit trente à quarante-cinq minutes après l'imprégnation, ce qui est précisément l'âge des stades les plus jeunes que nous ayons fixés. A ce moment, on peut, en s'aidant d'une forte loupe, voir les deux globules polaires sur l'œuf vivant, sous forme de deux petits corps sphériques, blanchâtres, logés dans une encoche de la surface pigmentée de l'hémisphère supérieur de l'œuf. Cette observation a été faite par Van Bambeke (80), par O. Schultze (87), par Moszkowski (01) et est très facile à faire avec un bon microscope binoculaire.

Sur les coupes, il faut parfois chercher longtemps avant de retrouver cette encoche et les globules polaires qu'elle contient, à cause de la forte pigmentation de cette partie de l'œuf, que nous avons toujours trouvée au voisinage immédiat du pôle supérieur.

Les globules polaires apparaissent comme deux petits corps ovulaires ou sphériques, réfringents, finement granuleux et très légèrement pigmentés ; leur taille est sensiblement égale et je n'ai pu y distinguer aucune trace d'éléments chromatiques. Jamais, non plus, je n'en ai trouvé plus de deux ; il est d'ailleurs établi, par les auteurs cités plus haut, que chez les Amphibiens, il est exceptionnel de voir le premier globule

polaire se diviser, comme cela est la règle chez la plupart des animaux; Fick (93) ne l'observe qu'une seule fois chez l'Axolotl et a vu quelques cas où cette division se limite au noyau.

Lorsqu'on observe des œufs âgés de trois quarts d'heure à une heure un quart, il suffit de chercher aux environs immédiats de la fossette germinative pour découvrir, plus ou moins facilement, le pronucleus femelle (voir fig. 2 pl. VIII). Un peu plus tard, lorsqu'il émigre vers l'intérieur de l'œuf, cette recherche est très difficile et souvent impossible. En effet, le pronucleus femelle est très petit, transparent, très peu coloré en rose pâle et noyé tantôt dans le pigment cortical, tantôt dans le vitellus et à peine visible entre les plaquettes qui l'entourent ; aucune structure particulière du protoplasme environnant n'indique sa présence. Examiné à un fort grossissement (fig. 3, pl. VIII) c'est une petite masse transparente, généralement ovalaire, à contours bien nets, entourée d'une mince couche de protoplasme finement granuleux et plus ou moins riche en pigment. De sa structure interne, on ne distingue qu'un nucléole, généralement bien net, et de vagues traînées chromatiques, à peine indiquées.

Ce qui est important à noter, c'est que l'aspect de ce pronucleus est celui d'un noyau complètement au repos. Rien ne décèle la présence d'un centrosome femelle ou, en tous cas, s'il existe, c'est à l'état complètement inactif. Tout dans l'examen de l'œuf entre le dernier acte des phénomènes de maturation et la constitution du noyau de segmentation, donne l'impression bien nette que le pronucleus femelle joue un rôle purement passif et n'entre pour rien dans l'activité intense qui se manifeste au contraire dans le protoplasme.

§ 2. — Pénétration des spermatozoïdes

Nous avons rappelé plus haut que la formation du second globule polaire et la pénétration des spermatozoïdes constituaient deux phénomènes simultanés, se produisant environ trois quarts d'heure après la ponte, qui, dans les conditions naturel-

les, coïncide avec l'imprégnation par le sperme. Ainsi que l'a montré Brachet (06), ce temps est employé par les spermatozoïdes à traverser la gangue gélatineuse qui entoure l'œuf. Massart (88, 89) a démontré que c'est grâce à leur sensibilité que les spermatozoïdes de la grenouille arrivent au contact de l'œuf ; en effet, la gangue de celui-ci, en se gonflant dans l'eau après la ponte, constitue un milieu formé de couches concentriques de densité croissante de l'extérieur vers l'intérieur, c'est-à-dire vers l'œuf par conséquent ; en vertu de leur irritabilité particulière, les spermatozoïdes sont sollicités de passer toujours du point où ils se trouvent vers le point où la densité est immédiatement supérieure et finissent ainsi par arriver au contact de la surface même de l'œuf. Si nous rappelons ces faits, c'est pour faire remarquer qu'il se produit ainsi une sorte de sélection dans les spermatozoïdes et que seuls peuvent pénétrer dans l'œuf ceux dont la vitalité intacte leur a permis de franchir la gangue de gélatine ; c'est un argument important en faveur de l'égalité complète et de l'équivalence " fonctionnelle „ des spermatozoïdes qui, en nombre variable, pénètreront dans le vitellus et y suivront des destinées variées.

Un certain nombre (proportionnel à la concentration du liquide spermatique) de spermatozoïdes se trouvent donc, à un moment donné, en contact avec la surface de l'œuf. Dans la fécondation normale, un seul d'entre eux pénètre, très généralement au voisinage du pôle supérieur (ou " animal „) — l'étude des coupes permet de reconnaître la situation de ce point grâce à l'accumulation de pigment qui s'y produit et qui est simplement la partie initiale de la traînée pigmentaire spermatique (voir fig. 2, pl. VIII).

Dans les polyspermies moyennes et fortes, Brachet (1910) a observé que les spermatozoïdes pénètrent souvent en nombre énorme, 50, 100 et en des points quelconques de l'hémisphère supérieur. Dans les œufs dispermiques ou trispermiques, nous constatons également que la pénétration peut se faire dans tout l'hémisphère supérieur. De l'ensemble des observations relatives aux œufs normaux, polyspermiques ou seulement di-

ou trispermiques, se dégagent donc deux faits : 1°) il n'y a pas, dans l'œuf de grenouille, de micropyle ni d'autres formations quelconques jouant le même rôle ; 2°) les spermatozoïdes semblent incapables de pénétrer dans l'hémisphère inférieur de l'œuf de grenouille.

Le premier point, l'absence de micropyle, n'a pas besoin de développements, se déduit de soi-même et a déjà, d'ailleurs, été établi, notamment par Roux (87).

Le second doit arrêter un instant notre attention. Des expériences de " fécondations localisées ", dont l'idée et la méthode reviennent à Newport (51), mais qui ont surtout été appliquées par Roux, démontrent que si on amène, au moyen d'un pinceau ou d'une fine canule en verre, du liquide spermatique en un point quelconque de l'hémisphère inférieur de l'œuf de grenouille, on ne réussit pas à obtenir de fécondation. Mais on ne peut pas préciser si les spermatozoïdes n'ont pas réussi à pénétrer dans l'œuf, ou si cette pénétration n'a pas été suivie de la copulation des pronuclei. L'étude des œufs polyspermiques, au contraire, démontre directement qu'il n'y a même pas de pénétration; à partir d'un certain niveau, un peu sous l'équateur de l'œuf, on ne rencontre plus trace de traînées pigmentaires. Il est difficile de se rendre compte de la cause de cette infériorité de l'hémisphère inférieur de l'œuf de grenouille au point de vue de la fécondation ; on pourrait peut-être invoquer l'accumulation de vitellus vers le pôle inférieur, formant obstacle mécanique à la pénétration des spermatozoïdes. Rückert (99), dans ses observations sur les Sélaciens, a constaté que les spermatozoïdes accessoires peuvent pénétrer bien en dehors de cette partie de l'œuf qui sera le disque embryonnaire et à travers des régions où le vitellus se présente déjà sous forme de gros grains, mais ne peut pas donner de limites précises à la zone de pénétration possible. Chez *Rana fusca*, cette zône semble s'arrêter à peu près à l'équateur de l'œuf.

Une fois qu'il a franchi la membrane vitelline, le spermatozoïde s'enfonce dans l'œuf en décrivant un trajet un peu

flexueux, mais dont la direction générale est sensiblement celle du rayon passant par le point d'entrée.

Pour l'étude de cette pénétration dans l'œuf dispermique ou trispermique, nous prendrons, pour faciliter la description, un cas où les deux ou les trois spermatozoïdes ont pénétré à peu près au même niveau et non loin du pôle supérieur de l'œuf, puis nous suivrons simplement la série des coupes, en nous rappelant que tous les œufs ont été orientés, autant que possible, de façon à être coupés parallèlement au plan équatorial.

Les premières coupes entament donc le pôle même de l'œuf et ne montrent d'abord qu'une grande abondance de pigment ; puis, en général très près du pôle, dans une encoche de l'écorce et perdus dans le pigment, les deux globules polaires avec les caractères déjà décrits (fig. 1 pl. VIII). Un peu plus bas et plus ou moins rapproché d'eux suivant l'âge de l'œuf, le pronucleus femelle apparaît à son tour (fig. 2), à peine visible au milieu du vitellus. Enfin, suivant le cas, deux ou trois accumulations très nettes de pigment en des points bien localisés de l'écorce (fig. 2) nous indiquent les points de pénétration des deux ou des trois spermatozoïdes. En examinant la suite des coupes, on voit ces zônes pigmentées s'isoler progressivement au sein du vitellus, perdre tout rapport avec la surface de l'œuf et se présenter sous forme de taches arrondies à contours diffus (fig. 4). Ces taches représentent les traînées pigmentaires spermatiques, coupées perpendiculairement par suite de l'orientation de l'œuf, et n'ayant donc pas l'aspect caractéristique de " traînées „ qu'elles auraient sur des coupes parallèles à l'axe de l'œuf.

Toutes ces traînées se comportant exactement de la même façon, nous continuerons notre étude en suivant l'une d'elles, à travers la série des coupes de plus en plus rapprochées de l'équateur de l'œuf et la description que nous en donnerons pourra s'appliquer à toutes les autres.

Comme nous le disions plus haut, la traînée de pénétration commence par être une simple accumulation de pigment dans le

vitellus ; mais un peu plus bas, on voit progressivement apparaître, dans ce vitellus, des modifications, une sorte d'épaississement, de condensation qui, partant de la traînée spermatique, s'étend de plus en plus à mesure qu'on s'éloigne du point d'entrée. On voit aussi apparaître dans cette formation une structure radiée qui, invisible au début, est de plus en plus indiquée et présente son maximum de netteté au niveau du pronucleus mâle, dont nous allons parler. Puis, si on continue à examiner des coupes de plus en plus éloignées du sommet de l'œuf, radiations et zône de condensation s'atténuent progressivement et finissent par disparaître complètement ; on ne voit plus alors, sur les coupes, que le vitellus en plaquettes de plus en plus volumineuses jusqu'au pôle inférieur de l'œuf (voir les fig. 4 et 5, pl. VIII).

Reprenons maintenant, en nous aidant de forts grossissements, l'étude des parties ultimes de la traînée pigmentaire ; nous la voyons aboutir à une sorte de plage claire, un véritable trou dans le vitellus, qu'on peut parfois apercevoir par transparence en regardant les coupes à l'œil nu. A un endroit quelconque de cette tache claire, mais le plus souvent à sa périphérie (V. fig. 6), on découvre la tête du spermatozoïde, considérablement augmentée de volume et présentant l'aspect caractéristique du pronucleus mâle. C'est un petit noyau arrondi, entièrement semblable au pronucleus femelle déjà décrit et à peu près de même volume, avec un nucléole plus ou moins net et de vagues traînées chromatiques. Une mince couche de protoplasme, avec des granulations excessivement fines, l'entoure complètement et contient les derniers grains de pigment de la traînée spermatique. Quant à cet espace clair si caractéristique qui entoure le pronucleus mâle, on a l'impression que le vitellus en a été refoulé et on n'y voit (fig. 6) que quelques minces travées de protoplasme très finement granuleux, rattachées d'une part à la couche périnucléaire et qui, d'autre part, se perdent dans la masse serrée de la zone d'irradiation proprement dite. Celle-ci qui, ainsi qu'il a été dit, atteint à ce niveau son maximum d'étendue et intéresse un vaste territoire de l'œuf, possède une structure caractéristique : d'une part des

accumulations linéaires de granulations de volumes variables, incolores ou pigmentées, disposées comme les mailles d'un réseau, ces mailles étant allongées, étirées, de façon à donner au tout un aspect irradié très net; d'autre part, dans ces mailles, du vitellus très serré, en plaquettes plus ou moins volumineuses, et qui ne me paraissent pas être orientées radiairement comme les granulations protoplasmiques, ce qui concorde absolument avec les observations de Michaelis (97).

Il est difficile de déterminer avec précision le point de départ de ces irradiations et généralement impossible de trouver au milieu de ces granulations de toute espèce et de tout volume, une granulation déterminée à qui on puisse attribuer le titre de centrosome. Parfois cependant, on voit, comme dans la fig. 6, pl. VIII, dans la couche protoplasmique périnucléaire, une petite masse réfringente, où viennent converger quelques-unes des travées de protoplasme qui traversent l'espace clair qui, d'une façon constante sur les pièces bien fixées (1), sépare le noyau spermatique de la zone irradiée ; il n'est pas impossible que cette petite masse représente le centrosome. C'est là d'ailleurs un détail cytologique que notre matériel n'était pas destiné à démontrer et nous pouvons, par analogie avec un nombre considérable d'observations, conclure à l'existence certaine d'un centrosome dans le voisinage immédiat du pronucleus mâle.

Résumons brièvement ce que nous avons trouvé en suivant les coupes, du haut en bas de l'œuf, et nous pouvons, par reconstitution, établir un schéma représentant une coupe perpendiculaire à l'équateur (V. fig. 7). D'abord les globules polaires, puis le pronucleus femelle, complètement au repos et privé de toute structure spéciale du vitellus avoisinant, les points d'entrée des spermatozoïdes (supposés ici au nombre de

(1) Par « pièces bien fixées » j'entends celles où tous les phénomènes, achromatiques et pigmentaires, sont également nets ; certains aspects peuvent en effet induire en erreur dans des œufs qui, paraissant parfaits au point de vue des phénomènes pigmentaires, par exemple, montrent des noyaux ratatinés ou des caryocinèses indécises, « floues ». Tous ces œufs ont, d'une façon absolue, été écartés des observations.

deux), la partie initiale des traînées pigmentaires s'enfonçant simplement dans le vitellus, l'apparition autour de chacune d'elles d'une zone irradiée au centre de laquelle se voit un espace clair, avec le pronucleus mâle et l'extrémité de la traînée spermatique, et enfin la disparition progressive de tout cela et le vitellus homogène de l'hémisphère inférieur de l'œuf.

Ce schéma, à part quelques variations de détail ou dues à l'âge variable de l'œuf, comme la position des points de pénétration des spermatozoïdes ou la situation du pronucleus femelle, peut, 1 $^1/_2$ heure après la fécondation, s'appliquer à tous nos œufs dispermiques ou trispermiques et nous verrons qu'il est très important de l'établir dans chaque cas pour comprendre la suite du développement. Il s'applique tout aussi bien à l'œuf normal, monospermique, dont il se trouvait quelques exemplaires dans notre matériel; fixés et colorés exactement de la même manière, ces œufs nous ont montré exactement les mêmes dispositions, sauf qu'il n'y a naturellement qu'une seule zone d'irradiation qui, ici, s'étend à tout l'hémisphère supérieur.

Mieux que la comparaison des figures 3 et 6, pl. VIII, ce schéma nous montre encore la différence profonde qui existe entre la manière de se comporter du pronucleus femelle et celle des pronuclei mâles. Il montre enfin que tous deux ou tous trois se comportent exactement comme le spermatozoïde unique de la fécondation normale et il n'est pas possible de voir entre eux une différence quelconque, tout au moins à ce stade.

Si maintenant nous réunissons les différentes coupes non plus sur un plan vertical, mais sur un plan unique horizontal, le plan équatorial par exemple, en y projetant les différents détails comme si nous regardions par le pôle supérieur de l'œuf, nous obtenons (fig. 8, etc.) des figures de la plus haute importance pour la signification physiologique de cette structure particulière (nous ferons désormais abstraction des globules polaires, qui n'ont plus d'intérêt au point de vue ou nous nous plaçons).

Examinons, par exemple, la fig. 8, pl. VIII. Il s'agit d'un œuf trispermique, âgé de 2 heures. On voit encore très bien les

traînées pigmentaires, les taches claires qui avoisinent les pronuclei mâles, le pronucleus femelle; mais ce qui attire de suite l'attention, c'est le partage très net de l'œuf entre les trois zones d'irradiation qui émanent des centrosomes mâles; chacune garde strictement son indépendance, intéresse un territoire bien distinct de l'œuf et semble n'avoir aucun rapport avec ses voisines, dont la sépare une figure cruciforme ou une sorte d'étoile à trois branches, plus claire, particulièrement nette sur les fig. 8, 10, etc., et sur la photo 26, pl. IX. Même aspect dans les œufs dispermiques, où les deux zones d'irradiations semblent pareillement étrangères l'une à l'autre et séparées par une ligne plus claire. La conviction s'impose, à l'examen de ces figures, qu'on a affaire à des unités morphologiques bien distinctes, complètes par elles mêmes.

Quelle est la nature de ces unités, leur signification, leur origine et leur importance ? C'est ce que nous allons tâcher d'établir en nous basant, d'une part, sur une étude des phénomènes qui se succèdent après la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, étude plutôt physiologique cette fois, et, d'autre part, sur une série de travaux antérieurs.

Avant de passer à l'examen de cette question, il importe de bien établir ce fait : ce qui crée la notion de ces entités dont nous venons de parler, c'est l'irradiation du protoplasme ovulaire par le centrosome mâle et cette irradiation seule. Si l'étude anatomique ne la montre nettement qu'au niveau du pronucleus mâle et que partout ailleurs on ne voit qu'une " condensation protoplasmique ", c'est uniquement parce que, avec l'orientation donnée à nos coupes, ces irradiations sont coupées verticalement d'abord, puis de moins en moins obliquement à mesure qu'on se rapproche de leur centre d'origine, où on les voit le mieux. C'est donc l'évolution de ces irradiations que nous devons suivre, ou, si l'on veut, l'évolution de l'activité du centrosome spermatique.

Nous avons vu qu'au début de son voyage à l'intérieur de l'œuf, le spermatozoïde ne laisse qu'une traînée pigmentaire sur son passage ; on ne voit pas d'irradiation du protoplasme.

De même, si on examine des œufs qui ont été fixés $^3/_4$ d'heure à 1 heure après l'imprégnation, on ne voit que des traînées très courtes, terminées par un pronucleus très petit et que n'entoure encore aucune irradiation. Il y a donc une période, au début de la pénétration du spermatozoïde, où le centrosome apporté par celui-ci ne manifeste pas encore sa présence, ou, du moins, son activité.

Puis, autour de parties plus profondes des traînées, et, aussi, autour des pronuclei chez des œufs fixés à un stade un peu plus avancé, on voit se dessiner des irradiations encore peu étendues, mais très nettes ; le centrosome mâle qui *était* inactif, *devient* actif et le devient de plus en plus à mesure qu'il s'est écoulé plus de temps depuis le moment où il est entré dans l'œuf ; ses irradiations s'étendent à des territoires toujours plus vastes. A un certain moment, cette activité demeure stationnaire, en ce sens que le centrosome a atteint *l'état où ses irradiations s'étendent au plus grand territoire de protoplasme possible* ; celui-ci, en effet, est limité et nous allons rechercher par quoi.

Dans l'œuf monospermique, il semble que ces limites soient simplement celles de l'œuf lui-même, ou tout au moins de la partie de l'œuf qui n'est pas encombrée de grosses plaquettes vitellines. L'examen de nos œufs monospermiques montre l'extension progressive des irradiations jusque tout près de l'écorce pigmentée.

Dans l'œuf dispermique ou trispermique, les choses se passent tout autrement. Qu'il y ait deux spermatozoïdes ou qu'il y en ait trois, chacun d'eux a apporté dans l'œuf un centrosome qui, comme nous l'avons vu, ne tarde pas à manifester son activité. Tant que les irradiations qui en émanent restent limitées à son voisinage, tout se passe comme dans l'œuf monospermique ; mais il vient un moment où les irradiations de deux centrosomes différents, en se propageant toujours plus loin, arrivent à se toucher en un même point de l'œuf : dès lors leur développement est arrêté et s'arrêtera successivement en tous les points où cette rencontre se fera ; de là la formation d'une sorte d'étoile, qui indique simplement une zône étroite

où le vitellus de l'œuf ne montre aucune trace d'irradiations, même entrecroisées, et n'appartient pas plus au domaine d'un des centrosomes qu'à celui de l'autre, ou des deux autres.

Voilà donc l'œuf arrivé à une sorte d'état d'équilibre : les deux ou les trois zônes d'irradiations se sont développées le plus possible, c'est-à-dire, chacune dans les limites que lui impose le développement même de sa ou de ses deux voisines, et cet état d'équilibre est définitif, comme nous le verrons. Des aspects comme celui de la fig. 10 rendent parfaitement compte ce qui s'est passé.

Si nous examinons au contraire la fig. 8, nous voyons bien encore un état d'équilibre analogue, mais nous remarquons de suite que les trois zônes d'irradiations intéressent des territoires très inégaux de l'œuf et que l'une d'elles, surtout, est nettement prédominante. Que s'est-il passé ? Les trois spermatozoïdes étaient-ils doués inégalement au point de vue de leur activité ? Ecartons immédiatement cette hypothèse qui ne repose sur rien ; tous les auteurs qui ont étudié la polyspermie physiologique ont insisté sur l'équivalence absolue entre tous les spermatozoïdes qui pénètrent dans l'œuf ; ce n'est que plus tard que l'un d'eux deviendra spermatozoïde principal en copulant avec le pronucleus femelle, mais ceci uniquement pour des raisons topographiques et de hasard, comme nous le verrons ; rappelons aussi, en ce qui concerne spécialement l'œuf de grenouille, la façon dont s'effectue la traversée de la gangue gélatineuse et la sélection qui en résulte parmi les spermatozoïdes. On pourrait supposer, enfin, que les spermatozoïdes pouvant pénétrer en divers points de l'œuf, il pourrait se faire qu'ils y rencontrent des milieux dont la résistance au développement des zônes irradiées est variable, à la suite, par exemple, d'une richesse plus ou moins grande en vitellus. Mais Brachet (1910 a) a démontré que la superficie de ces zônes est indépendante de la situation topographique du point de pénétration du spermatozoïde correspondant et il n'y a donc pas lieu d'en tenir compte ici.

Tout s'explique très bien, au contraire, et concorde parfaitement tant au point de vue de ce que nous avons dit déjà de

l'activité croissante du centrosome mâle, qu'avec toutes les observations publiées au sujet du " cycle „ du centrosome, si nous admettons que des zônes d'irradiations inégalement développées, dans un même œuf, représentent la conséquence de la pénétration, non pas simultanée mais *successive*, des deux ou des trois spermatozoïdes.

Dans l'œuf représenté fig. 8, le spermatozoïde dont on voit la traînée au milieu de la zône d'influence la plus étendue, a certainement pénétré avant les deux autres ; son centrosome est entré en activité et a progressivement irradié environ la moitié de l'œuf ; les deux autres sont entrés un peu plus tard : leurs centrosomes aussi, après une période de repos, entrent en activité ; mais dès ce moment, déjà, la plus grande partie de l'œuf a été envahie par les radiations du premier ; seuls restent libres les deux petits territoires où ils peuvent développer les leurs ; très rapidement, par conséquent, se trouve atteint le moment, que nous avons décrit plus haut, où les trois zônes d'influence se touchent et aussitôt leur développement à toutes les trois s'arrête, se fixe en un état d'équilibre qui gardera définitivement la trace des pénétrations successives des spermatozoïdes.

Nous avons dès maintenant la certitude que les " zônes d'action „ formées par les radiations de chaque centrosome sont complètement indépendantes l'une de l'autre. Mais le fait que chacune tend à se développer comme si elle était seule crée entr'elles un antagonisme évident. *L'état d'équilibre qui s'établit dans l'œuf ne peut se concevoir que comme le résultat d'un conflit,* tantôt entre des forces égales (fig. 10), tantôt entre des forces inégales, nous avons vu pourquoi (fig. 8).

L'examen de la figure 9 pl. VIII va nous démontrer qu'il y a lieu d'envisager, dans ce conflit, un autre élément que la tendance de chaque centrosome à irradier une portion aussi grande que possible du protoplasme. Il s'agit d'un œuf dispermique contenant deux zônes d'influence fortement inégales et répondant chacune à un centrosome spermatique. Chacune contient la projection, sur le plan de la coupe, du trajet de la traînée

pigmentaire laissée par le spermatozoïde correspondant. Le trajet de celle qui se trouve dans la plus petite des zônes d'influence est fort intéressant : au début, nous la voyons s'enfoncer dans le vitellus suivant la direction habituelle, normale au point d'entrée ; puis elle se coude brusquement et semble vouloir regagner l'écorce de l'oeuf. A des degrés divers, on peut constater la même chose sur les fig. 8 et 10, qui représentent des oeufs trispermiques, et sur la fig. 11.

Mais ces traînées pigmentaires ne représentent pas que le trajet suivi par le pronucleus mâle : elles représentent, en même temps, celui parcouru par le centrosome spermatique qui ne le quitte pas. Pendant que se forme la partie initiale de la traînée, celle qui est rectiligne dans les oeufs dont il vient d'être question, il commence à peine à entrer en activité ; mais il n'en est plus de même pour la partie qui, ici, est si bizarrement coudée ; il est manifeste qu'au moment où le centrosome spermatique s'est mis à irradier le protoplasme ovulaire, il a rencontré un obstacle ; non seulement sa pénétration rectiligne dans l'œuf a été arrêtée, mais il a été *refoulé* par cet obstacle. Or ce dernier ne peut être que la zône d'influence de l'autre spermatozoïde qui, la grandeur du territoire irradié par son centrosome l'indique, avait pénétré le premier, de telle sorte que nous avons ici la démonstration que deux centrosomes actifs se repoussent.

Cette répulsion est une donnée précieuse, qui nous permettra de comprendre le mécanisme de la fécondation des oeufs polyspermiques. Mais il importe de la préciser et, pour cela, il y a une constatation à faire : c'est que, visiblement, les centrosomes occupent toujours, lorsque l'oeuf est arrivé à l'état d'équilibre qui a été décrit, le " centre de figure „ de leurs zônes d'action. L'examen de la figure 9 montre fort bien que la traînée pigmentaire aboutit précisément à ce point : en d'autres termes, elle indique le trajet suivi par le centrosome pour venir occuper définitivement un endroit déterminé de l'oeuf : le centre de la partie du protoplasme où il pouvait encore étendre ses irradiations.

Ce n'est donc pas à proprement parler d'une répulsion entre centrosomes actifs qu'il s'agit, mais *d'une combinaison de ces deux tendances qu'ils ont : 1° à développer leurs irradiations dans le plus grand territoire de protoplasme possible ; 2° à occuper un point situé sensiblement au centre de ce territoire.*

Pour en revenir à la fig. 9, nous pouvons maintenant très facilement nous rendre compte de ce qui est arrivé. Un premier spermatozoïde a pénétré dans l'oeuf et son centrosome en irradie progressivement le protoplasme ; un peu plus tard pénètre le second spermatozoïde ; pendant tout un temps son centrosome n'est guère encore actif et il s'enfonce radiairement dans le vitellus. Mais dès que ce centrosome entrera en activité, ses irradiations vont se heurter à celles émises par le centrosome de l'autre spermatozoïde ; en ce point les deux zônes d'influence se touchent et leur développement cesse, pour l'une comme pour l'autre. Cependant, dans d'autres régions de l'oeuf il existe encore du protoplasme " neutre ", non irradié. Les deux zônes d'influence s'étendent chacune de ce côté, se touchant successivement sur tous les points de la ligne qui va les séparer l'une de l'autre. Mais un simple coup d'oeil sur la fig. 9 suffit à montrer que, par suite de cet accroissement des zônes irradiées, le centrosome du spermatozoïde qui a pénétré en dernier lieu, occuperait, s'il ne se déplaçait pas, une position tout à fait excentrique dans la figure formée par l'ensemble de ses irradiations. Pour des raisons que nous ignorons, mais qui sont sans aucun doute des raisons mécaniques, cette position n'est pas stable et le centrosome se déplace, entraînant avec lui le pronucleus mâle, jusqu'au moment où il arrive au centre du territoire protoplasmique soumis à son influence ; là il s'arrête, la traînée pigmentaire garde la trace de son voyage et ne va pas plus loin.

Pour le moment je n'insisterai que sur deux points que ces faits mettent en lumière ; c'est d'abord la formation d'un coude dans la traînée pigmentaire, s'expliquant uniquement par des phénomènes de répulsion entre centrosomes actifs, et sans qu'il soit nécessaire de s'occuper des noyaux qui les accom-

pagnent ; nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur ce fait qu'il suffit, pour le moment, de noter. C'est ensuite cette conclusion que la position définitive occupée dans l'oeuf par les pronuclei mâles n'est pas quelconque, et ne dépend pas seulement de la position des points de pénétration des spermatozoïdes ; leur répartition n'est que le résultat du conflit entre les zônes d'influence des centrosomes ; les pronuclei sont entraînés *passivement* et ne s'arrêteront que quand tout l'oeuf aura été partagé entre leurs centrosomes et que le point qu'ils occupent, au centre de la zône d'irradiation, sera devenu fixe.

*
* *

Dans tout ce qui précède, nous avons toujours parlé du centrosome spermatique apporté dans l'œuf comme d'un fait définitivement acquis. En ce qui concerne *Rana fusca*, le doute n'est pas possible et la démonstration n'est plus à faire. Remarquons seulement que l'observation des œufs di- ou trispermiques et surtout celles faites par Brachet, des œufs fortement polyspermiques, apportent un argument de plus en faveur de l'origine spermatique du centrosome fécondé de l'œuf puisque, d'une façon absolument constante, on voit apparaître autant de sphères attractives qu'il a pénétré de spermatozoïdes. Dans leurs recherches sur les œufs polyspermiques d'oursin, O. et R. Hertwig (87) et Boveri (07) ont aussi attiré l'attention sur ce rapport constant.

Les observations relatives à la polyspermie physiologique ont abouti au même résultat. Fick (93) chez l'Axolotl, Michaelis (97) chez *Triton*, ont décrit en détail la pénétration effective dans l'œuf de la pièce intermédiaire du spermatozoïde et du centrosome qu'elle contient.

Chez les Sélaciens, Rückert (99) décrit également la pénétration des spermatozoïdes et, au bout d'un certain temps, l'apparition autour de chacun d'eux d'une zone de protoplasme qui paraît condensé (Verdichtungszonen) et prend un aspect nette-

ment irradié. La même observation est faite par NICOLAS (03-04) chez les *Reptiles* : formation autour de chaque pronucleus mâle d'une zone différenciée, irradiée, qu'il nomme " territoire périnucléaire. „

Il est inutile de nous arrêter aux travaux de WHEELER (97), de MEAD (98), de CONKLIN (97), de WATASE (94), de VAN DER STRICHT (95), de GRIFFIN (99), de KOSTANECKI (96-02-06), de MORGAN (96), de LAMS (1910), etc., tous auteurs qui ont émis des doutes sur l'origine purement spermatique du centrosome de l'œuf fécondé. Leurs observations portent sur des organismes très éloignés du groupe des Amphibiens ou placés dans des conditions d'existence anormales. De même, notre interprétation ne serait nullement incompatible avec la formation *de novo*, dans le protoplasme de l'œuf, d'un centrosome, *au contact* du pronucleus mâle (cf. le travail de H.-D. KING, (01). Cela revient au même, à notre point de vue.

L'origine purement spermatique des zones d'influence qui se partagent l'œuf di-ou trispermique de grenouille peut être considérée comme certaine.

Il nous reste à définir la disposition si caractéristique que ces centrosomes spermatiques amènent dans l'œuf.

Nous avons vu qu'en irradiant chacun une partie du protoplasme de celui-ci, ils déterminaient l'existence de deux ou de trois unités, morphologiquement et physiologiquement indépendantes les unes des autres. BRACHET (1910) qui a constaté exactement la même chose chez les œufs polyspermiques et la formation d'autant d'unités, tout aussi définies, qu'il y a de spermatozoïdes dans l'œuf, leur applique le terme d'*énergides spermatiques*.

Comme je me servirai désormais de la même expression, je crois utile de préciser exactement ce qu'il convient d'entendre par le mot énergide dans le cas qui nous occupe.

La notion de l'*énergide* a été créée par le botaniste SACHS (82) et admise par toute une série d'histologistes : KŒLLIKER, von KUPFFER, etc. Elle est due à la nécessité qu'il y avait de retrouver, dans des masses volumineuses de matière vivante

non divisées en cellules, des groupements quelconques équivalant chacun, morphologiquement et physiologiquement parlant, à la cellule type, c'est-à-dire à cette unité biologique fondamentale, comprenant un noyau et une certaine quantité de protoplasme étroitement associés l'un à l'autre, et ayant une existence complète par elle-même (selbständiger Organismus). Et c'est ainsi que, d'après Sachs, nous dirons qu'un syncytium est " polyergide ", et renferme autant d'énergides que nous y trouverons de fois *un* noyau entouré de protoplasme, en supposant que ces énergides aient chacune leur existence propre, leur unité fonctionnelle, leur individualité, au même titre qu'une cellule isolée de ses voisines par une membrane et dont elles représentent donc la conception la plus simple.

La dénomination d'énergides spermatiques se justifie parfaitement pour désigner l'ensemble formé par chaque pronucleus mâle et le protoplasme qui est sous son influence. Mais il est impossible de ne pas voir, en même temps, combien est insuffisante la définition donnée par Sachs de l'énergide, et même celle plus récente de Prenant (1910) : " l'énergide est tout corps protoplasmique contenant un noyau et régi par lui ".

Qu'on examine l'œuf que représente la fig. 8 ou la fig. 10, pl. VIII, et il faudrait d'après la définition habituelle, y distinguer quatre énergides, puisque l'œuf contient quatre noyaux : le pronucleus femelle et trois pronuclei mâles. Or, il est de toute évidence que ces œufs ne contiennent que trois unités fonctionnelles, indépendantes, comparables à la cellule prise dans sa plus simple acception : ce sont les trois noyaux spermatiques et leurs zones d'influence, ce sont les trois *énergides spermatiques*. Cet oeuf qui contient quatre noyaux n'est que " triergide " car il est impossible de voir deux individualités distinctes dans la zone d'irradiation où se trouve englobé le pronucleus femelle ; celui-ci a beau être un noyau entouré de protoplasme vivant, *il n'y a pas d'énergide femelle*. Comme tout le protoplasme de l'oeuf est définitivement et complètement partagé entre les trois énergides spermatiques et que le noyau de cet oeuf n'en existe pas moins, il faut bien admettre qu'il se

trouve englobé dans l'une d'elles, *qu'une seule énergide peut donc contenir deux noyaux*, ou, en d'autres termes, que le noyau envisagé comme tel et entouré de protoplasme ne suffit pas à constituer une individualité complète. L'oeuf normal, monospermique, apparaît également de toute évidence comme " monergide ".

Il y a autre chose que le noyau dont il faut s'occuper et je crois qu'il suffit de jeter un coup d'œil sur les figures pour s'en rendre compte : il y a, dominant toute l'individualité de l'énergide spermatique, *le centrosome*, vis à vis duquel les noyaux, tant mâles que femelles, s'effacent complètement dès qu'il entre en activité (v. plus haut), pour suivre passivement la route que le développement maximum de ses irradiations leur impose.

Qu'on examine au contraire les figures du travail de Kostanecki et Wierszejski (96) représentant les phases précédant la copulation des pronuclei chez *Physa* ; on ne peut s'empêcher d'y voir deux unités fonctionnelles, deux énergides, l'une mâle, l'autre femelle, qui se manifestent indépendamment l'une de l'autre. C'est qu'ici, contrairement à ce qui se passe chez la plupart des animaux et chez la grenouille particulièrement, le pronucleus femelle conserve un certain temps un *centrosome*, actif au même titre que le centrosome mâle. Mais cette situation ne dure pas bien longtemps : le centrosome femelle dégénère et achève de disparaître au moment où les pronuclei s'accolent ; l'oeuf fécondé est monergide, mais non pas parce qu'il ne contient plus qu'un seul noyau: le noyau de segmentation ; il devient monergide parce qu'il ne contient plus qu'un seul centrosome actif, le centrosome mâle.

La situation de l'oeuf *mûr* chez l'immense majorité des animaux n'est pas moins remarquable ; chacun sait que l'oeuf mûr est une cellule incomplète, incapable de vivre par elle même. S'il est vrai qu'elle ne contient plus qu'un demi noyau, ce n'est pas cela qui contribue le plus à lui donner ses caractères d'inertie fonctionnelle, c'est plutôt l'absence de centrosome, de centrosome actif tout au moins. Que l'impulsion nécessaire à son développement lui soit donnée par la féconda-

tion ou par la parthénogenèse artificielle, sa première manifestation est l'apparition d'un centrosome actif, quelle que soit son origine. L'oeuf redevient une cellule complète, une énergide dans un cas comme dans l'autre et, pourtant, il contiendra deux demi noyaux, dans le cas de fécondation et jusqu'à la formation du noyau de segmentation, ou bien, dans le cas de parthénogenèse, en sera réduit à son demi noyau.

La prédominance du centrosome dans la notion de l'énergide semble chose démontrée. Boveri qui a précisément insisté, après Van Beneden (83), sur l'apport d'un centrosome par le spermatozoïde, lors de la fécondation (02), a établi, dans un mémoire classique, qu'il fallait y voir un organe bien défini de la cellule; de même que tout noyau dérive d'un noyau, Ed. Van Beneden et Boveri ont démontré que tout centrosome dérive d'un centrosome, tout au moins dans l'immense majorité des cas et sous réserve des critiques de Wilson, de Mead, de Morgan, etc.

Il faut se rappeler aussi le rôle prépondérant du centrosome dans les phénomènes mécaniques de la vie de la cellule, tandis que d'autres parties de l'organisme cellulaire sont plus spécialement destinées à d'autres fonctions : nutritives, motrices, héréditaires, etc.

Il ne faut donc pas l'oublier dans la définition, et, surtout, dans la notion de l'énergide, comme on le fait souvent et négliger ses importantes fonctions dans ce qui doit représenter la cellule " idéale „.

Nous ne nous étendrons pas davantage sur ce point qui sort du cadre de notre sujet. Nous n'avons eu d'autre but, en l'abordant, que de spécifier que si nous utilisons le terme *énergide*, c'est pour désigner *une unité morphologique et fonctionnelle, comprenant un noyau, du protoplasme et un centrosome, et dont l'étendue est en raison directe du degré d'activité de celui-ci.*

*
* *

Nous avons donc vu, dans ce premier chapitre, que la maturation des oeufs dispermiques ou trispermiques se passe exac-

tement comme dans l'oeuf normal ; j'ai décrit les globules polaires, au nombre de deux, et le pronucleus femelle, en insistant sur l'absence de centrosome femelle actif.

D'autre part j'ai démontré que si deux ou trois spermatozoïdes pénètrent dans l'oeuf, chacun d'eux se comporte comme le spermatozoïde unique de la fécondation normale : transformation en pronucleus mâle, traînée pigmentaire, irradiation du protoplasme ovulaire par le centrosome qui entre progressivement en activité. Nous avons vu ensuite les rapports qui s'établissent entre les deux ou les trois zones d'irradiations ainsi produites : nous avons vu qu'elles sont dans un état d'indépendance complète l'une vis à vis de l'autre, qu'elles se développent dans de certaines limites que nous avons précisées et qu'elles se repoussent. Enfin, nous avons caractérisé l'état d'équilibre de l'oeuf, résultant de ces actions réciproques, en disant qu'il est sous l'influence de deux ou de trois *énergides spermatiques*, que la répartition des pronuclei mâles dans le vitellus se produit d'une façon passive, qui n'est que le résultat du conflit entre ces énergides, chacune tendant à se développer comme si elle était seule.

CHAPITRE II.

Copulation des Pronuclei

Dans tout ce que nous venons de voir au sujet de la pénétration des spermatozoïdes dans l'oeuf, il n'a guère été question du pronucleus femelle. Pendant toute cette période, une structure particulière et très importante s'édifie dans l'oeuf ; mais elle relève uniquement d'actions " mécaniques ", exercées par les centrosomes spermatiques ; le pronucleus femelle n'y prend aucune part et tout porte à croire que c'est précisément parce qu'il n'a pas de centrosome actif.

Nous sommes arrivés maintenant à une phase bien différente du processus de la fécondation : la copulation des pronuclei, la réunion de ces deux demi-noyaux de sexe opposé en un noyau unique, réunion qui constitue, ainsi que l'a démontré Ed. Van Beneden (83), l'acte essentiel et le plus caractéristique de la fécondation.

Le pronucleus femelle reprend évidemment ici toute son importance. Que devient-il, au milieu des influences contradictoires qui ont amené ce partage si caractéristique de l'oeuf, en deux ou en trois domaines étrangers l'un à l'autre et dont l'individualité semble complètement prépondérante sur celle de l'oeuf lui-même ? Et, d'abord, où se trouve-t-il ?

Déjà en parlant de la maturation de l'oeuf, nous avons vu que la situation du pronucleus femelle varie suivant qu'on observe des oeufs plus ou moins âgés, qu'il est d'abord tout près de la surface, puis qu'il gagne progressivement l'intérieur. Nous discuterons longement, un peu plus loin, les causes de ce mouvement. Pour le moment il est surtout important d'insister sur la coïncidence entre l'expulsion du second globule polaire et la pénétration des spermatozoïdes, parce que c'est précisément lorsque celle-ci débute que le pronucleus femelle, à peine rentré au repos, se trouve dans le voisinage immédiat de la fossette germinative. Comme les spermatozoïdes peuvent pénétrer en un point quelconque de l'hémisphère supérieur de l'oeuf, l'un d'eux peut, dès son entrée, se trouver très près du pronucleus femelle : on voit alors les deux pronuclei accolés au bout d'une traînée pigmentaire très courte, qui commence en un point de la surface de l'oeuf très voisin de la fossette germinative. Or il est bien certain que le hasard seul a amené dans ce cas la pénétration d'un spermatozoïde en un point aussi favorisé de l'oeuf et c'est là un premier fait à retenir.

Mais il va de soi que lorsque deux ou trois spermatozoïdes seulement pénètrent dans l'oeuf, ce cas peut être considéré comme une exception, étant donné le très petit volume du pronucleus femelle par rapport à la masse de l'oeuf. Elle n'en est pas moins intéressante, d'ailleurs, et nous aurons à y revenir.

Presque toujours, les deux ou les trois spermatozoïdes pénètrent à quelque distance de la petite fossette germinative. Alors, pendant tout un temps, aucun de ces spermatozoïdes n'est, plus qu'un autre, prédestiné à copuler. Mais l'activité de leurs centrosomes ne s'en manifeste pas moins et bientôt,

suivant le processus que nous avons vu, tout l'hémisphère supérieur de l'oeuf est partagé entre deux ou trois énergides spermatiques. Il arrive forcément un moment ou le pronucleus femelle se trouve englobé dans l'une ou l'autre et ce sera naturellement dans l'énergide qui s'étend la première jusqu'à l'endroit où il se trouve.

L'aspect des coupes est, à ce stade, des plus caractéristiques et on découvre, mais non sans peine, le petit noyau de l'œuf perdu au milieu des irradiations de l'un des centrosomes spermatiques (v. fig. 8, pl. VIII).

Ce moment de l'évolution de l'oeuf di-ou trispermique où le pronucleus femelle est englobé dans l'une des deux ou des trois énergides spermatiques est de la plus haute importance pour la compréhension de toute la suite du développement. Il convient de s'y arrêter quelque peu.

Nous avons en premier lieu, dans ce fait, l'explication d'une observation fondamentale : chez *Rana fusca*, que l'oeuf soit dispermique, trispermique ou, comme Brachet l'a montré, même polyspermique, *le pronucleus femelle ne s'unit jamais qu'à un seul pronucleus mâle* ; un seul spermatozoïde garde donc sur tous les autres l'apanage de la copulation ; il y a un *spermatozoïde principal* qui se distingue d'un nombre variable de *spermatozoïdes accessoires*. En effet, nous avons vu que les énergides spermatiques sont complètement étrangères l'une à l'autre et que, même, elles se repoussent ; dès lors, aussitôt que le pronucleus femelle se trouve englobé dans l'une d'elles, il est, par le fait même, soustrait à l'influence des autres, *qui n'existent pas plus pour lui, désormais, que si l'œuf était monospermique.* C'est pour cela seulement que, chez *Rana fusca*, la polyfécondation n'est que partielle et n'atteint pas la constitution du noyau de segmentation ; celui-ci reste normal et formé uniquement de la réunion de deux demi-noyaux de sexe opposé.

Le spermatozoïde principal est donc simplement celui dont l'énergide s'étend la première jusqu'à l'endroit où se trouve le pronucleus femelle. Si on se rappelle que l'étendue d'une énergide est fonction du temps qui s'est écoulé depuis la pénétration du spermatozoïde correspondant, on conçoit que *le*

plus souvent, lorsque les énergides n'ont pas les mêmes dimensions, c'est la plus grande qui est celle du spermatozoïde principal (fig. 8, pl. VIII). Mais il faut se garder d'oublier un autre facteur qui a son importance également : l'endroit de l'oeuf où se fait la pénétration. Dans la fig. 9, par exemple, on voit que le spermatozoïde principal est celui qui a la plus petite énergide ; il a pénétré certainement après l'autre, mais il s'est trouvé immédiatement dans le voisinage du pronucleus femelle et l'a enveloppé des irradiations de son centrosome dès que celui-ci est entré en activité.

C'est donc uniquement le hasard, hasard de temps ou d'endroit de la pénétration, qui établit la distinction entre un spermatozoïde principal et un ou deux spermatozoïdes accessoires. Il n'y a aucune autre différence entre eux ; leurs capacités sont identiques.

En continuant l'examen de coupes faites dans des oeufs de plus en plus âgés, nous voyons progressivement diminuer la distance entre les pronuclei mâle et femelle. Enfin, généralement dans des oeufs âgés de 2 heures à 2 heures et 1/2, nous les voyons s'accoler l'un à l'autre. Dès ce moment il n'est plus possible, dans nos coupes, de distinguer le noyau mâle du noyau femelle. La copulation se fait au centre de l'espace clair que j'ai décrit autour du pronucleus mâle (v. les fig. 9 et 10). Il n'est pas possible de dire si, lorsqu'elle commence, le centrosome mâle est encore unique, ou s'il s'est déjà divisé. La seule chose certaine, c'est que lorsque cette division est déjà complètement achevée et le fuseau achromatique constitué, on voit encore très bien les deux pronuclei accolés, comme le représente la fig. 11 pl. VIII. A ce stade qui semble immédiatement précéder la division de l'oeuf, les deux noyaux ont encore un contour très net et le réseau de chromatine paraît mieux indiqué ; rien ne semble annoncer qu'ils soient sur le point de se fusionner ; je n'ai d'ailleurs pas trouvé le stade intermédiaire entre celui-là et celui où, comme dans la fig. 13, la chromatine est déjà disposée en un paquet indistinct de filaments à l'équateur du fuseau nucléaire. Il m'est donc impossible

de dire de façon précise s'il y a ou s'il n'y a pas fusion des deux pronuclei avant la formation de la première plaque équatoriale

La conclusion de ces observations, c'est que, si l'on s'en tient à l'énergide du spermatozoïde principal, tout le processus de la copulation s'y passe exactement comme on l'a décrit, à plusieurs reprises, dans l'oeuf normal, et comme j'ai pu le constater moi-même en examinant les quelques oeufs monospermiques que contient mon matériel (v. la partie technique).

Considérations générales sur la fécondation des œufs di- et trispermiques.

Les œufs di- et trispermiques de *Rana fusca* sont peut être moins riches en enseignements, à propos de la fécondation normale, que les œufs polyspermiques. En tous cas, il est deux points cependant sur lesquels je crois qu'ils peuvent apporter des faits intéressants : la nature de la résistance que l'œuf de *Rana fusca* oppose normalement à la polyspermie et la valeur de deux termes introduits dans la Science par l'étude de l'œuf de grenouille, et précisés par Roux : la traînée de pénétration (Penetrationsbahn) et la traînée de copulation (Copulationsbahn).

* * *

1. La formation d'une membrane vitelline, qui part du point de pénétration du spermatozoïde et s'étend à la surface de l'œuf entier, le rôle efficace que joue cette membrane dans la résistance normale de la majorité des œufs à la polyspermie, sont des données qui, depuis les observations de Fol (79) et celles, plus précises, d'O. Hertwig, semblent définitivement établies. Il est probable que cette membrane, ou, tout au moins, l'espace qui s'étend entre elle et le vitellus peut constituer un obstacle à la pénétration des spermatozoïdes. Est-ce le seul moyen de défense de l'œuf ? C'est ce que nous allons examiner.

Il est un point sur lequel nous n'avons pas insisté, en parlant de la pénétration des spermatozoïdes, parce que son intérêt

réside précisément dans le parti qu'on en peut tirer au sujet de la question que nous examinons maintenant. Un simple coup d'oeil sur les fig. 8 à 10, pl. VIII montre de quoi il s'agit.

Quels que soient les oeufs qu'on examine, jamais on ne voit la traînée pigmentaire d'un spermatozoïde traverser ou même côtoyer l'énergide d'un autre : on a nettement l'impression que tous les spermatozoïdes ont pénétré précisément là où ils pouvaient développer leur énergide et pas du tout en un endroit quelconque de l'oeuf. Examinons par exemple la fig. 8 ; nous voyons bien que la pénétration d'un premier spermatozoïde n'empêche nullement deux autres d'entrer quelque temps après : la comparaison des trois énergides suffit à s'en rendre compte ; mais il est curieux de voir que les deux derniers spermatozoïdes ont pénétré uniquement dans la seule région de l'oeuf, assez petite relativement, où ils pouvaient encore disposer de protoplasme libre, pour y former chacun une énergide. La pénétration simultanée, ou à peu près, et " symétrique „ des trois spermatozoïdes dans l'oeuf que représente la fig. 26, pl. IX est tout aussi remarquable. La fig. 9 montre également, mais chez un oeuf dispermique, que le spermatozoïde qui arrive le dernier pénètre précisément là où il existait encore du protoplasme non irradié par le premier.

Que les énergides spermatiques ne puissent se développer que dans les territoires encore " neutres „ de l'oeuf, cela n'a rien d'étonnant si on se rappelle leurs propriétés caractéristiques d'indépendance fonctionnelle totale et de répulsion entre elles. Mais le fait qu'un spermatozoïde ne peut même pas traverser simplement une énergide déjà formée, pour gagner l'endroit où rien ne s'opposerait au développement des irradiations de son centrosome ; le fait que seul le spermatozoïde qui se présente à la surface de l'oeuf, en un point correspondant à une zone encore vierge du protoplasme, peut y pénétrer, nous amène à une conclusion intéressante : une fois que les énergides se sont étendues à tout l'hémisphère supérieur d'un oeuf, celui-ci oppose une résistance absolue à toute nouvelle pénétration de spermatozoïdes. L'oeuf que représente la fig. 8 est trispermique et l'est définitivement ; la fig. 9 représente, de

même, un oeuf qui ne sera jamais plus que dispermique. Mais tant qu'il reste un coin de protoplasme qui n'est pas encore irradié, même s'il est très petit, on ne peut prévoir si de nouveaux spermatozoïdes ne vont pas pénétrer ; dans ce cas-ci il en était entré deux et l'oeuf est devenu trispermique. Dans la fig. 4, il s'agit d'un oeuf très jeune ; les énergides sont encore peu développées ; il n'y en a que deux, mais rien ne m'autorise à dire que cet oeuf serait resté seulement dispermique si on ne l'avait pas fixé.

J'insiste encore une fois sur la fig. 8. Je viens de dire que par suite de la pénétration tardive, relativement, de deux nouveaux spermatozoïdes, cet oeuf était *devenu* trispermique. En effet, jusqu'à ce moment il *était* monospermique. Mais nous pouvons aller plus loin et affirmer qu'il le serait resté si les irradiations du premier centrosome spermatique avaient eu le temps d'envahir ce petit territoire de protoplasme où existent maintenant deux nouvelles énergides. Or c'est ce qui a lieu dans la fécondation normale ; le liquide spermatique étant beaucoup moins riche en spermatozoïdes que celui qui sert aux expériences de polyspermie, le premier d'entre eux qui arrive à la surface de l'oeuf a tout le temps d'y pénétrer et de développer complètement son énergide avant qu'un second ne le suive. Si cette dernière éventualité se présente, ce nouveau spermatozoïde se heurte, sur toute la surface de l'oeuf, à du protoplasme qui est définitivement acquis au premier et sa pénétration est impossible.

L'influence qu'une énergide exerce sur la partie de la surface de l'oeuf qui lui correspond, explique donc parfaitement pourquoi un oeuf est monospermique quand il n'y a pas trop de spermatozoïdes à la fois à sa surface, pourquoi il est plus ou moins polyspermique lorsqu'il y en a davantage. Mais il est un point sur lequel je désire insister : dans cette défense de l'oeuf contre la polyspermie, l'oeuf lui même reste absolument passif : c'est le spermatozoïde seul qui, par l'intermédiaire de son centrosome, empêche les autres de le suivre ; *c'est le spermatozoïde qui lutte contre la polyspermie* !

L'antagonisme que nous avons vu se manifester à l'intérieur de l'oeuf entre les énergides spermatiques, leur tendance si nette à se développer au maximum possible, le conflit permanent qui en résulte et qui ne se termine que lorsqu'un état d'équilibre se constitue entre ces forces en lutte, tout cela a donc sa répercussion jusqu'à la couche la plus superficielle de l'oeuf; par les propriétés qu'elle manifeste successivement, elle ne fait que refléter les phases du conflit qui se déroule dans les couches profondes.

Mais que devient la membrane vitelline dans tout cela ? Les actions répulsives ramenées aux énergides ne sont elles pas plutôt des conséquences de sa formation ? A première vue, il y a là une objection sérieuse. La membrane vitelline existe chez *Rana fusca* comme chez les Echinodermes; elle a les mêmes caractères chez l'oeuf normal et chez l'oeuf surfécondé; bien que je ne possède aucun document à ce sujet, il y a lieu de croire qu'elle se forme chez la grenouille comme chez les autres animaux, qu'elle débute là ou pénètre le spermatozoïde et qu'elle s'étend progressivement et concentriquement à la surface de l'oeuf. Son développement suit donc exactement celui de l'énergide correspondante et il semble difficile de discerner laquelle de ces deux formations agit dans la résistance à la polyspermie (prise ici simplement dans le sens de pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans l'oeuf).

Je crois cependant que les faits suivants montrent que c'est le centrosome spermatique qui joue le rôle principal.

1° Dans leurs expériences de polyspermie, O. et R. Hertwig (87) démontrent que la pénétration des spermatozoïdes dans l'œuf se fait avant la formation de la membrane vitelline, retardée par l'action des anesthésiques. Cependant, ainsi que Korschelt et Heider (02) l'ont déjà fait remarquer, on voit des spermatozoïdes nager entre la membrane vitelline et l'œuf fécondé; ils ont donc franchi la membrane, mais ne peuvent pénétrer cependant à l'intérieur de l'œuf fécondé; le protoplasme de celui-ci leur oppose un obstacle d'origine interne.

2° Dans son travail sur les variations de la " Kernplasmarelation „ sous l'influence de divers agents extérieurs, E.

Godlewski jun. (08) constate, ainsi que Loeb (07) l'avait déjà observé, que les œufs soumis pendant 3 à 4 minutes à l'action de l'anhydride carbonique forment une membrane vitelline typique lorsqu'on les replace dans l'eau de mer normale.

Godlewski essaya en vain d'y faire pénétrer un spermatozoïde ; mais la membrane vitelline n'est pour rien dans cette résistance : on peut l'enlever complètement par secouage, sans que ces œufs, réellement condamnés à la parthénogenèse, acceptent de se laisser féconder.

Godlewski fait un rapprochement entre cette résistance d'origine intra-ovulaire et la résistance normale des oeufs à la polyspermie : " (p. 307) Vor der Polyspermie wird das Ei nicht nur durch die Dotterhaut geschützt, sondern auch durch die inneren Veränderungen im Ei, welche sich gleichzeitig mit der Membranbildung abspielen „. Godlewski ne précise pas, d'ailleurs, la nature de ces modifications internes de l'oeuf fécondé.

3° Lorsque l'action de l'anhydride carbonique se prolonge pendant 6 à 12 minutes, Godlewski constate que la membrane vitelline ne se forme pas, mais que ces oeufs peuvent encore être fécondés normalement. Ce fait est à rapprocher des observations d'O. et R. Hertwig (87) qui ont montré que tant que les oeufs sont sous l'influence des anesthésiques, la membrane vitelline ne se forme pas, malgré la pénétration de plusieurs spermatozoïdes. Mais, bien que dans un tout autre but, Wilson (01), Teichmann (03), Loeb (99-1900) et d'autres ont aussi démontré que tant que dure cette influence, aucune irradiation n'entoure le pronucleus mâle dont le centrosome reste inactif. Lorsque les anesthésiques cessent d'agir, le centrosome spermatique se met à irradier le protoplasme ; si les oeufs sont jeunes ou pas trop mûrs, la membrane vitelline se forme en même temps ; s'ils sont pondus depuis longtemps (O. et R. Hertwig, Godlewski) elle ne se forme pas, mais, dans les deux cas, plus aucun spermatozoïde ne peut pénétrer dans l'oeuf.

4°) Loeb (08) insiste beaucoup sur ce fait que les agents de parthénogenèse expérimentale commencent par déterminer la formation d'une membrane vitelline. Ainsi qu'on l'a vu, Godlewski (08) a démontré que ces oeufs sont voués à la par-

thénogenèse, refusent de se laisser féconder normalement, même si la membrane vitelline est enlevée. Mais, par l'action des agents de parthénogenèse, un centrosome réapparait (1) dans l'oeuf, devient actif, irradie le protoplasme et remplace le centrosome spermatique de la fécondation normale en se comportant exactement comme lui. Ainsi que le démontrent les observations déjà citées de Kostanecki et Wierzejski (96) sur l'oeuf de *Physa*, le " sexe „ d'un centrosome ne modifie en rien les manifestations de son activité : tout centrosome actif crée une énergide.

5° Dans certains oeufs, comme chez *Physa* (Kostanecki et Wierzejski), chez *Crepidula* (Conklin (01-02), chez *Thysanozoon* (Van der Stricht (97)), un centrosome actif existe auprès du pronucleus femelle et avant toute pénétration de spermatozoïde. Or, dans toutes les figures où cette pénétration est représentée, ce centrosome femelle présente des traces manifestes de dégénérescence et ses irradiations s'estompent progressivement.

6° Dans son travail sur la fécondation des oeufs polyspermiques de *Rana fusca*, Brachet (1910a) a été amené également à admettre que la résistance de l'oeuf à la polyspermie, dans les conditions habituelles, résulte, au moins en partie, de l'action du centrosome spermatique : "...seuls les spermatozoïdes arrivés en temps voulu seront capables de se créer un territoire dans l'oeuf. Comme tout se passe en quelques minutes, ceux qui arriveront plus tard trouveront l'hémisphère supérieur de l'oeuf déjà entièrement occupé par des énergides spermatiques en voie de formation et ils ne pourront plus pénétrer „ (p. 284).

De l'ensemble de ces observations et des miennes, je crois pouvoir conclure que *la présence d'un centrosome actif (d'une énergide) quelconque dans un œuf constitue un obstacle à la pénétration des spermatozoïdes.*

S'inspirant d'un travail de Driesch, Godlewski (08) pense

---

(1) Pour la description de ce centrosome (ou de ces centrosomes) v. les travaux de Morgan (96), de Wilson (01), Petrunkewitsch (04) etc.

que la résistance, d'origine intra-ovulaire, à la pénétration d'un spermatozoïde est en rapport avec des changements des propriétés physiques ou physiologiques de l'oeuf, son aptitude à la fécondation (Befruchtungsfähigkeit), par exemple. Il n'est pas douteux qu'outre l'introduction d'un centrosome actif dans l'oeuf, la fécondation ou la parthénogenèse artificielle provoquent dans celui-ci d'importantes modifications de toute une série de propriétés. Mais, un oeuf comme celui de la fig. 8, pl. VIII le démontre bien, si ces modifications peuvent s'opposer à la pénétration des spermatozoïdes, ce n'est que dans la partie de l'oeuf déjà envahie par les radiations du centrosome et c'est donc à l'activité de celui-ci qu'on est ramené.

Avant de passer à une autre question, je dois encore faire une remarque relative à un passage du dernier travail de Brachet (1910b), qui décrit deux cas où une seule énergide contient deux traînées pigmentaires, deux pronuclei mâles indépendants et deux centrosomes actifs. Il semble en effet qu'il y ait eu ici pénétration d'un second spermatozoïde dans une zône déjà irradiée du protoplasme de l'oeuf, ce qui serait en contradiction absolue avec ce que nous venons de voir. En réalité, loin d'être une objection, cette observation est un argument en faveur de la part du centrosome mâle dans la lutte contre la polyspermie. Brachet l'explique, en effet, en disant que ces deux spermatozoïdes se sont suivis de très près lors de leur pénétration ; il n'était pas encore question, à ce moment, d'énergide ni d'irradiations quelconques ; ces deux pronuclei mâles auraient sans doute copulé si avant cela le centrosome du premier n'était devenu actif ; la conséquence est une complication de son énergide : lorsque le centrosome du second devient actif à son tour, les deux groupes d'irradiations se gênent, s'entrecroisent et il en résulte une mitose polycentrique.

Nous n'avons envisagé, dans ce qui précède, que la résistance normale de l'oeuf à la pénétration de plusieurs spermatozoïdes Déjà en comparant, dans le cours de l'Introduction, les observations de Brachet (1910) sur les oeufs polyspermiques de *Rana*, à celles d'O et R. Hertwig (87) ou de Boveri (07)

sur les oeufs polyspermiques d'oursin, nous avons vu qu'il est nécessaire de distinguer deux degrés dans la *polyspermie avec polyfécondation*, qu'elle est plus complète chez ceux-ci que chez ceux-là.

Comparés à ceux de Boveri, nos oeufs dispermiques conduisent à la même constatation, à l'exception toutefois du " Doppelspindeltypus „, où cet auteur observe également la copulation du pronucleus femelle avec un seul pronucleus mâle.

Chez *Rana*, la formation précoce des énergides et leurs propriétés suffit à expliquer qu'il n'y ait jamais qu'un seul spermatozoïde copulant. Pour expliquer la formation du " Doppelspindeltypus „ qui se comporte de même, Boveri (07, p. 16), conclut d'une façon identique : " Er dürfte vermutlich dann besonders leicht eintreten, wenn die beiden Spermaköpfe weit voneinander entfernt im Ei eindringen und der eine den ihm nahe gelegenen Eikern sehr rasch an sich zieht. Dann sind, ehe der zweite herangekommen ist, die beiden Spermasphären schon so kräftig ausgebildet, dass ihre gegenseitige Abstossung zur Geltung kommt ; der zweite Spermakern mit seiner Sphäre bleibt nun selbständig „.

Chez l'Echinoderme aussi, par conséquent, il suffit que l'un des centrosomes spermatiques entre en activité avant l'autre, pour que le pronucleus femelle cesse de copuler avec les deux spermatozoïdes ; ceux-ci sont dans ce cas aussi indépendants l'un de l'autre que dans l'oeuf dispermique de grenouille. Au contraire, lorsque les deux spermatozoïdes copulent, leurs deux centrosomes ne manifestent leur activité qu'après la copulation ; il est probable que l'oeuf d'échinoderme peut présenter ce cas, contrairement à l'œuf de grenouille, par suite de sa petite taille et de sa pauvreté en deutoplasme : si les spermatozoïdes pénètrent en même temps, ils arrivent ensemble au contact du pronucleus femelle avant l'entrée en activité de leur centrosome ; chez la grenouille, le temps que mettent les spermatozoïdes à arriver près du noyau de l'oeuf est suffisant pour que les énergides soient formées bien avant

la copulation, et il est dès lors impossible que deux spermatozoïdes se rapprochent d'un même point.

Il n'y a donc pas que la résistance de l'œuf à la polyspermie dont il soit nécessaire de s'occuper. Lorsque l'œuf n'a pas réussi à éviter la polyspermie, il peut encore se défendre contre la polyfécondation : le noyau de segmentation peut encore être sauvé, et il l'est d'une façon constante chez la grenouille, inconstante chez l'oursin.

Encore une fois, c'est, ici, uniquement le centrosome spermatique qui entre en jeu : s'il entre en activité assez vite, le noyau de segmentation échappe à la polyfécondation ; dans le cas contraire celle-ci est totale. Quant à l'œuf lui même, il ne sort pas plus ici de son inertie, qu'au moment de la pénétration des spermatozoïdes.

* * *

2) Le plus souvent, lorsqu'on décrit le processus de la fécondation, on se contente de dire qu'une fois que le spermatozoïde a pénétré dans l'œuf, pronucleus mâle et pronucleus femelle s'attirent et vont à la rencontre l'un de l'autre. Cependant le trajet parcouru par le noyau mâle à l'intérieur de l'œuf est assez intéressant pour qu'on cherche à préciser d'avantage quelles sont les causes déterminantes de ses mouvements. L'œuf de *Rana fusca*, où ce trajet reste indiqué par une traînée pigmentaire, se prête particulièrement bien à cette étude.

Dans la plupart des cas, la traînée pigmentaire, dans l'œuf monospermique et qui n'a subi aucune manipulation, s'étend radiairement du point d'entrée au point où se rencontrent les deux pronuclei, mais on trouve fréquemment des œufs où ce trajet représente non plus une ligne sensiblement droite, mais une ligne brisée, avec un coude très net. Roux (87) a attiré l'attention sur ces oeufs et en a fait une étude dont les résultats sont très importants et qui ont suscité de nombreuses recherches. Dans l'esprit de Roux, l'existence de traînées pigmentaires coudées démontre que le spermatozoïde subit successivement deux influences directrices dans son trajet à

l'intérieur de l'œuf. La partie qui s'étend de la surface, au point d'entrée, jusqu'au coude, représente simplement la tendance du spermatozoïde à s'enfoncer radiairement dans l'oeuf, sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir une attraction par le pronucleus femelle ; Roux lui donne le nom significatif de *Penetrationsbahn* (87). Pourquoi ce trajet ne se continue-t-il pas en ligne droite à partir d'un certain moment ? C'est ce que Roux explique en faisant intervenir une force nouvelle qui, supplantant la tendance à une simple pénétration du spermatozoïde, dirige maintenant celui-ci vers un point déterminé de l'oeuf ; cette force est l'attraction du pronucleus femelle et son action détermine finalement la copulation, d'où le nom de *Copulationsbahn* donné par Roux à la seconde partie de la traînée pigmentaire.

Lorsqu'il n'y a pas de coude dans la traînée spermatique, cela ne veut pas dire que l'un ou l'autre des facteurs qui règlent sa direction ait fait défaut ; cela signifie que, pour certaines raisons que nous ne développerons pas ici, tous deux agissaient sensiblement dans le même sens, et l'instant où le pronucleus mâle a subi l'attraction du pronucleus femelle ne sera pas marqué par un coude dans le trajet qu'il parcourt.

Les faits établis par Roux ont été confirmés par tous ceux qui ont observé les oeufs d'Amphibiens à traînées pigmentaires, mais quelques auteurs ont fait de graves objections à leur interprétation.

En étudiant la fécondation chez l'Axolotl, Fick (93) observe des traînées pigmentaires coudées, mais il constate qu'il n'est pas rare de voir qu'à la suite de l'angle formé, le pronucleus mâle s'est écarté de plus en plus du pronucleus femelle et qu'une attraction par celui-ci ne peut donc pas expliquer pourquoi, à un certain moment, le spermatozoïde change de direction ; Fick observe aussi, dans cet oeuf à polyspermie plus ou moins physiologique, que les spermatozoïdes accessoires présentent fréquemment une " Copulationsbahn „ très nette et il conclut de ses observations que les mouvements des pronuclei mâles à l'intérieur de l'oeuf n'ont rien à voir avec une attraction sexuelle émanée du pronucleus femelle.

Cependant Fick semble faire erreur en attribuant la formation du coude de la traînée au mouvement de rotation effectué par le spermatozoïde à l'intérieur de l'oeuf; on sait, en effet, qu'après un certain temps, c'est la pièce intermédiaire avec le centrosome qui précède la tête spermatique vers l'intérieur de l'oeuf; mais, alors que cette rotation paraît être un phénomène général, toutes les traînées pigmentaires ne sont pas coudées et l'explication de Fick est ici en défaut.

R. Hertwig (03) qui insiste sur ce dernier point, n'admet pas cependant l'interprétation de Roux; il pense que ce dernier a observé des oeufs surmaturés et que c'est à cause de cela que le pronucleus femelle se trouve déjà à l'endroit de l'oeuf où se fera la copulation, et où le spermatozoïde viendrait le rejoindre. Sans aller jusqu'à dire que c'est ce dernier qui attire le pronucleus femelle, R. Hertwig admet que, dans les conditions normales, les deux pronuclei convergent vers le point de l'oeuf qui est prédestiné pour la copulation [1]; mais le pronucleus femelle y arrive après le pronucleus mâle.

O. Schultze (87) chez *Rana*, H.-D. King (01) chez *Bufo lentiginosus* n'admettent pas non plus que le pronucleus femelle se trouve déjà vers le centre de l'oeuf au moment de la pénétration du spermatozoïde.

J'ai examiné les oeufs di- et trispermiques de *Rana fusca* particulièrement au point de vue de la direction des traînées pigmentaires et j'attire l'attention sur quatre faits.

1° Dans un petit nombre d'oeufs, âgés de 1 h. $^3/_4$ à 2 heures, on voit, non loin du pôle supérieur, une traînée pigmentaire très courte, rectiligne ou parfois un peu sinueuse, terminée par un pronucleus mâle déjà accolé au pronucleus femelle; l'autre traînée, ou les deux autres si l'oeuf est trispermique, ont leur aspect habituel et s'enfoncent déjà profondément dans l'oeuf. Il y a donc eu ici copulation précoce et le trajet parcouru par le spermatozoïde copulant est très court; il est logique d'admettre que ce dernier a, par hasard, pénétré très près de l'endroit où se trouvait le pronucleus femelle; nous

[1] « Copulationsstelle. »

avons déjà envisagé cette possibilité; mais cela démontre aussi que, dans ce cas, il y a eu attraction entre les deux pronuclei.

2° D'autres oeufs, en très grand nombre, et comprenant aussi plusieurs oeufs monospermiques, montrent le pronucleus femelle isolé, près de la surface; à une certaine distance, on voit la coupe d'une traînée pigmentaire qui, si on la suit de coupe en coupe, se prolonge vers le centre de l'oeuf et se termine par le pronucleus mâle avec ses caractères habituels. En reconstituant l'oeuf, on constate qu'à un certain moment, le pronucleus mâle est passé beaucoup plus près du pronucleus femelle qu'il ne l'est maintenant; il n'a pas été attiré et l'examen de la suite de la traînée montre qu'il n'est nullement influencé par lui et continue à s'en écarter de plus en plus.

3° Lorsqu'on examine des oeufs où les énergides sont déjà complètement développées et où, comme nous l'avons vu, les pronuclei mâles occupent leur place définitive, on voit que tantôt les traînées pigmentaires sont rectilignes, que tantôt elles sont coudées; dans ce dernier cas, on voit, d'une façon constante et en s'aidant de ce qui a été dit au sujet des conditions de leur développement, que les énergides spermatiques se sont gênées l'une l'autre et se sont déplacées; le changement de direction du spermatozoïde n'apparaît ici que comme un moyen de faciliter le développement maximum possible de son énergide, tout en continuant à lui permettre d'en occuper le centre.

4° A plusieurs reprises enfin, nous avons vu le pronucleus femelle être déjà englobé dans l'énergide du spermatozoïde principal, et celui-ci s'écarter cependant de lui, comme l'indique la direction de la traînée pigmentaire. La copulation ne s'en fera pas moins, et dans des cas semblables, c'est le pronucleus femelle qui va rejoindre le pronucleus mâle; celui-ci, visiblement entraîné par son centrosome, ne se meut que pour arriver au centre de l'énergide développée au maximum, puis s'arrête.

Ni l'attraction entre les pronuclei, comme le pense Roux, ni la simple rotation des spermatozoïdes, invoquée par Fick, ni même la tendance qu'auraient, d'après R. Hertwig, les pronu-

clei à gagner indépendamment tous les deux l'endroit où se fera la copulation, ne peuvent suffire à expliquer tous les faits qu'on peut observer dans la pénétration des spermatozoïdes dans l'œuf. Je pense que l'observation des œufs di- et trispermiques met surtout en évidence le peu d'importance de l'attraction entre les pronuclei ; dans l'immense majorité des cas (v. 2°, 3° et 4° ci-dessus), ceux-ci sont soumis à des influences qui tendent plutôt à les écarter l'un de l'autre ; ce n'est guère que dans les rares œufs où un spermatozoïde pénètre tout près de l'endroit où se trouve le pronucleus femelle, qu'on a l'impression qu'il se précipite sur lui.

Il y a un point surtout que les observations ci-dessus font ressortir : *une fois que les centrosomes sont entrés en activité, tous les mouvements du pronucleus mâle n'ont d'autre raison d'être que de le maintenir au centre de son énergide, tout en permettant à celle-ci de prendre le plus grand développement possible,* dût-il même, pour cela, s'écarter du pronucleus femelle qui est déjà englobé dans sa zone d'action.

Quant à la signification du coude qui se forme dans certaines traînées et de la " Copulationsbahn „ qui lui fait suite, l'interprétation de Roux ne peut se concilier avec ce qu'on peut voir dans les œufs di- ou trispermiques ; *il n'y a, chez ceux-ci, de soi-disant " traînée de copulation „ que lorsque les énergides (v. le 2°) se sont gênées dans leur développement et ont dû se déplacer*, qu'il s'agisse de celle du spermatozoïde principal ou de celles des spermatozoïdes accessoires.

On objectera que les conditions n'étant pas les mêmes dans l'œuf monospermique et dans l'œuf di- ou trispermique, on ne peut lui appliquer le même raisonnement. Il est évident que la seule présence de deux énergides spermatiques dans un seul œuf bouleverse complètement la conception habituelle d'une attraction plus ou moins mystérieuse entre deux pronuclei de sexe opposé ; cela n'est certainement pas un argument en faveur de la solidité de cette conception. Mais il y a plus : j'ai insisté sur ce fait, déjà noté par O. Schultze (87), que même dans l'oeuf monospermique, le spermatozoïde s'éloigne tout d'abord du pronuclues femelle, pour gagner le centre de ce qui sera sa

vaste énergide. Si un coude se produit dans ce trajet, c'est qu'il n'avait pas la bonne direction pour aboutir à ce résultat, sans doute à cause d'une certaine position de son point de pénétration qui pourrait, s'il se dirigeait en ligne droite, l'entraîner dans le vitellus de l'hémisphère inférieur; or, c'est dans la partie la plus riche en protoplasme que doit se former l'énergide, c'est vers le centre de cette partie là de l'oeuf que le pronucleus mâle est entraîné dès que son centrosome devient actif. Les lois du développement de l'énergide sont les mêmes; qu'il n'y en ait qu'une, ou qu'il y en ait plusieurs, elle tendent toujours à s'étendre à la plus grande masse de protoplasme possible.

La conclusion à tirer de tout cela, c'est que traînée de pénétration (Penetrationsbahn) et traînée de copulation (Copulationsbahn) représentent bien deux choses différentes. Mais ce qui les distingue, ce n'est pas l'attraction entre les pronuclei; c'est uniquement le fait que le centrosome est déjà en activité ou ne l'est pas encore. La traînée de pénétration ne perd rien de son importance: nous le verrons à propos du plan de symétrie; mais l'expression " Copulationsbahn „ a le tort d'impliquer exclusivement l'idée d'un facteur qui, en réalité, s'associe à d'autres qui sont beaucoup plus importants.

Je ne discuterai pas ici les causes qui entraînent le pronucleus femelle vers le pronucleus mâle dont l'énergide l'atteint la première. Brachet (1910*a*) a montré que deux pronuclei s'attirent et copulent, quels qu'ils soient, à condition qu'ils ne soient pas *chacun* accompagnés d'un centrosome actif. Rückert (99, 1910) a émis des idées analogues. Dans le cas qui nous occupe, le pronucleus mâle est immobilisé au milieu de son énergide et ne peut donc pas aller à la rencontre du noyau femelle; il faut donc se garder d'en conclure qu'il ne subit pas d'attraction de la part de ce dernier; tout ce que nous savons, c'est que si cette attraction existe, elle est incapable de lutter contre la force qui enchaîne le pronucleus mâle à son centrosome. Tout se passe donc comme si le pronucleus femelle était seul attiré. Mais subit-il l'inflence des irradiations du centrosome spermatique? Ces irradiations ont-elles pour effet de

précipiter sa marche en renforçant la simple attraction entre deux pronuclei ? C'est possible, mais je tiens à faire remarquer qu'il ne faut tenir aucun compte, ici, du fait que le pronucleus femelle copule toujours avec le spermatozoïde dont l'énergide s'étend la première jusqu'à lui ; cela n'est pas du tout un argument en faveur d'une action quelconque des irradiations ; cela signifie simplement que le *pronucleus femelle est compris dès ce moment dans une région où tout se passera comme si l'œuf était monospermique.*

* *
*

Nous voilà arrivés au terme de la première partie de notre étude. Ce que nous avons vu comporte encore un certain nombre de conclusions d'ordre général ; comme les chapitres qui suivent leur apportent de nouveaux faits, je les réserverai pour les considérations que suggèrera l'ensemble de ce travail.

Pour le moment je me bornerai à passer rapidement en revue quelques travaux relatifs à la fécondation des œufs polyspermiques en général. Il ne sera pas inutile de résumer d'abord brièvement ce qu'est cette fécondation chez l'œuf di- ou trispermique de *Rana fusca.*

Ce qui domine tout dans ce moment de l'évolution de cet œuf, c'est son partage entre deux ou trois énergides spermatiques ; l'œuf perd son individualité, joue un rôle purement négatif, n'intervient en rien dans le conflit qui se déroule entre les spermatozoïdes qui ont franchi sa membrane.

Lors de la copulation des pronuclei, ce n'est pas, à proprement parler, l'œuf qui est le théâtre de cet acte essentiel de la fécondation ; ce n'est qu'une partie de lui même, partie dont les limites sont celles de l'énergide du spermatozoïde principal. Plus celle-ci est étendue, plus grande est la partie de l'œuf où tout se passe comme dans la fécondation normale.

C'est dans cette formation constante d'une zone qui échappe à la polyfécondation que réside essentiellement la caractéristique de la fécondation des œufs di- et trispermiques de grenouille, et, ainsi que l'a démontré Brachet (1910*a*), des œufs polyspermiques eux mêmes, où cette zone est naturellement bien plus petite.

Il y a un premier rapprochement à faire, entre cette fécondation et celle des oeufs à polyspermie physiologique constante, comme ceux des *Sélaciens*. Comme Brachet a longuement insisté là dessus et que, d'autre part, Rückert (1910) vient, dans un récent travail, de faire très complètement cette comparaison, je pourrai être bref et n'insister que sur quelques points.

Tout l'intérêt de cette confrontation est dans la similitude quasi absolue entre les oeufs de *Torpedo* ou de *Pristiurus* et ceux, pourtant bien différents, de *Rana fusca*. Les différentes phases de la fécondation se succèdent dans le même ordre, avec les mêmes caractères. Chez les *Sélaciens* aussi, on voit un certain nombre de spermatozoïdes pénétrer dans l'oeuf, se transformer en pronuclei et se former chacun une énergide : tous, indistinctement, parcourent la même série des transformations préparatoires à la copulation ; celle-ci sera également le privilège d'un seul, sans qu'une autre cause que le hasard intervienne dans la détermination du spermatozoïde copulant. L'oeuf reste tout aussi passif, devant un identique conflit d'énergides spermatiques. Tous les faits de répulsion entre ces énergides, que les oeufs polyspermiques de *Rana* montrent si nettement, Rückert (1910) les décrit et leur donne la même interprétation dès 1899, lorsqu'il les observe chez les *Elasmobranches*; il crée pour eux la notion d'un " Caryotaxisme „ négatif, dont l'effet est d'écarter les pronuclei mâles les uns des autres, et, surtout, de rendre une polyfécondation totale impossible.

La seule différence entre les oeufs polyspermiques de grenouille et l'oeuf des Sélaciens réside dans le sort qui est réservé aux spermatozoïdes accessoires ; mais c'est là une autre question, qui n'a rien à voir avec le mécanisme de la fécondation et sur laquelle je reviendrai plus loin. L'essentiel est, pour le moment, de constater cette uniformité dans l'action exercée par les centrosomes spermatiques à l'intérieur de l'oeuf, ce même bouleversement de toute conception d'une finalité dans la copulation des pronuclei, ce même effacement de toute attraction entre eux, de tout phénomène sexuel, pourrait-on dire,

devant des actions purement mécaniques, qui pourraient se passer dans n'importe quelles cellules, pourvu qu'elles contiennent un centrosome actif et du protoplasme à irradier.

Je crois qu'il est difficile de voir une dissociation plus parfaite entre les phénomènes dynamiques et les phénomènes héréditaires ou " nucléaires „ de la fécondation ; cela montre aussi à quel point celle-ci est un phénomène complexe, où se superposent les actes biologiques les plus variés et qui gardent leurs caractères propres, leur indépendance même, en dépit d'une apparente unité d'ensemble.

Quant aux expériences de polyspermie d'O. et R. Hertwig (87) et de Th. Boveri (07), je ne puis que rappeler ce qui en a déjà été dit à plusieurs reprises. Leur plus grand intérêt, en ce qui concerne cette partie de notre étude, réside dans la démonstration qu'ils fournissent du résultat bien différent de la copulation des pronuclei, suivant que les centrosomes spermatiques entrent en activité avant ou après son achèvement ; dans le premier cas, celui du " Doppelspindeltypus „, tout se passe comme dans l'oeuf dispermique de grenouille ; dans le second, lorsqu'il y a copulation du pronucleus femelle avec plusieurs pronuclei mâles, les faits sont tellement différents et aussi les problèmes qu'ils soulèvent, qu'une comparaison utile ne peut s'établir. Il faut remarquer, d'ailleurs, que l'oeuf d'echinoderme se prête mal à une étude détaillée du mécanisme de la fécondation. Dans leurs observations, O. et R. Hertwig et Boveri laissent ce point un peu dans l'ombre, déduisent de la disposition de la première figure de division la manière dont s'est effectuée la copulation et s'occupent presqu'exclusivement des stades ultérieurs sans préciser les détails de la pénétration des spermatozoïdes.

Déjà à plusieurs reprises, j'ai fait remarquer que les observations que j'ai pu faire sur les oeufs di-et trispermiques de *Rana fusca* étaient en très grande partie la confirmation pure et simple de celles que Brachet a faites sur les oeufs polyspermiques. C'est, en effet, dans cette première partie de leur évolution que ces deux groupes d'oeufs se ressemblent le plus et soulèvent sensiblement les mêmes problèmes. Il y a cependant quelques

points intéressants qu'une comparaison entr'eux fait ressortir. C'est, par exemple, la diminution constante de l'importance de l'énergide du spermatozoïde principal par rapport à la masse de l'oeuf. Dans la dispermie, elle représente encore la moitié de l'oeuf et souvent plus. Déjà elle n'est plus qu'un tiers dans la majorité des oeufs trispermiques et devient rapidement une très petite partie de l'oeuf, lorsqu'on parcourt les différents degrés de la polyspermie : les phénomènes " nucléaires „ de la fécondation sont de moins en moins frappants pour l'observateur, qui voit, au contraire, l'oeuf presqu'entier sous la seule influence de noyaux mâles.

Nous avons vu aussi que sauf le cas exceptionnel d'une pénétration tout près de la fossette germinative, chez l'oeuf dispermique et même, mais plus rarement déjà, chez l'oeuf trispermique, c'est presque toujours le spermatozoïde arrivé en premier lieu, celui dont l'énergide est la plus grande par conséquent, qui devient le spermatozoïde principal. Dans la détermination de celui-ci, le facteur " temps „ est donc plus important que le facteur " endroit „ de la pénétration. Mais plus le nombre des spermatozoïdes s'élève, plus on voit ce dernier devenir prédominant ; dans les polyspermies fortes il agit finalement tout seul, pour cette simple raison que parmi les très nombreux points de pénétration disséminés sur toute la surface de l'hémisphère supérieur de l'œuf, il est presque fatal qu'il y en ait au moins un dans le voisinage de la fossette occupée par les globules polaires.

Pour résoudre certains problèmes, comme, par exemple, les causes de la direction des trainées pigmentaires ou la nature de l'obstacle opposé normalement à la polyspermie, les œufs dispermiques, par la simplicité relative des dispositions qu'ils présentent, me paraissent un meilleur matériel que les œufs polyspermiques. Par contre, rien chez eux ne peut remplacer ce que réalise la polyspermie surtout très forte, pour l'étude des rapports entre les pronuclei, suivant que les centrosomes sont présents ou inexistants, actifs ou encore au repos, ou pour la comparaison entre la polyspermie artificielle et polyspermie

physiologique, dont Brachet (1910a) puis Rückert (1910) ont tiré d'importantes conclusions.

Une étude séparée des œufs seulement di-ou trispermiques se justifie donc complètement, même pour cette première période de leur existence. Il n'y a évidemment aucun " abîme „ entr'eux et les œufs tétraspermiques ; les différents degrés de la polyspermie se relient entr'eux par d'insensibles transitions ; mais il n'en est pas moins vrai que les œufs que nous étudions spécialement permettent de grouper un certain nombre de faits dont l'ensemble nous apparaîtra de plus en plus différent de ceux que montrent les œufs polyspermiques.

Note. — Je ferai encore une dernière remarque, que me suggère la lecture d'un tout récent travail de Morgan, Payne et Ethel Browne (1910). Ces auteurs donnent les résultats d'expériences qui permettent de vérifier si la théorie de la " fécondation sélective „ (selective Fertilization) répond à la réalité des faits. Je ne puis entrer ici dans la discussion de cette question ; cette théorie est une tentative d'explication de l'affinité entre les cellules sexuelles, lors de la fécondation ; je renvoie pour tout détail au travaux de Mc Clung (01), de Wilson (05-06), de Morgan (09), de Sutton (03), de Castle (03-09), de P. Gérard (08) etc. Morgan, Payne et Browne émettent cette conclusion que, chez *Cumingia*, le spermatozoïde fécondant est simplement celui que le hasard amène le premier en contact avec l'œuf, qu'il n'y a pas fécondation d'un œuf soi-disant femelle par un spermatozoïde soi-disant mâle, ou réciproquement. Or il est certain que les expériences de polyspermie ont la même signification, avec ceci en plus qu'elles démontrent que c'est encore uniquement le hasard qui amène le pronucleus femelle à copuler avec l'un quelconque des spermatozoïdes qui ont pénétré, en nombre variable, dans l'œuf.

Je me contente de signaler ce fait aux auteurs de ce travail.

DEUXIÈME PARTIE

SEGMENTATION DES OEUFS DI- ET TRISPERMIQUES.

Nous étudierons dans cette deuxième partie la segmentation des œufs di-et trispermiques, en entendant par là [1] le processus qui débute avec la formation de la première figure de division et s'étend jusqu'à la formation des feuillets germinatifs.

Ainsi comprise, la segmentation constitue une période bien définie dans le développement de l'œuf : elle apparaît comme un simple morcèlement de celui-ci en cellules de plus en plus petites, jusqu'au moment où des mouvements et des déplacements commenceront à se produire parmi elles, en amenant leur groupement en feuillets, début d'une autre phase de la vie embryonnaire et qui sera traitée plus loin.

Bien que n'ayant que d'assez lointains rapports avec la segmentation, la question de la symétrie bilatérale dans l'œuf di- ou trispermique constituera le dernier chapitre de cette partie. C'est uniquement pour la facilité de la description que j'ai suivi cet ordre ; il y a dans cette question certains points qui ne peuvent être traités qu'en se basant sur la façon dont se fait la première division de l'œuf ; il y en a d'autres qui sont absolument nécessaires à la compréhension de la structure des embryons. Je crois qu'il est donc logique de l'intercaler entre l'étude de la segmentation et celle de ces derniers.

[1] Cette interprétation de la segmentation n'est pas conforme à celle qui est généralement adoptée par les embryologistes et qui s'arrête au stade blastula. Nous aurons l'occasion de voir qu'en effet la blastula est un stade très caractéristique du développement, mais, *au point de vue de l'ensemble de ce travail, il était indispensable de faire un tout* de la segmentation et du stade blastula et d'opposer nettement cette période à la suivante.

CHAPITRE III.

Première segmentation.

La fig. 61, pl. XI, représente l'aspect extérieur, bien caractéristique, d'un œuf trispermique au moment de la première division. Les trois premiers blastomères sont égaux. C'est, de beaucoup, le cas le plus fréquent mais il y a parfois des différences dans leurs dimensions ; la disposition des trois sillons est alors légèrement modifiée. L'origine de ces variations est intéressante mais ne peut être établie que par l'étude des coupes.

Quant aux œufs dispermiques, comme ils se divisent en deux et que rien ne les distingue des œufs normaux avant la deuxième division, je ne dirai rien de leur aspect extérieur. La figure 58, pl. XI, est uniquement destinée à montrer l'orientation des sillons qui diviseront alors l'œuf en six, s'il est dispermique.

§ 1. — Etude des coupes.

La fig. 11, pl. VIII, représente un œuf dispermique au début de la première segmentation. Les fig. 24 et 25, pl. IX, sont simplement les deux figures de division du même œuf dessinées à un grossissement beaucoup plus fort. On voit encore très bien les noyaux, dont les contours sont restés bien nets ; le centrosome est déjà complètement divisé, les deux asters et le fuseau achromatique bien constitués.

J'ai dit combien il était difficile de préciser, au milieu des granulations de toute espèce qui entourent le noyau, si l'une d'elles devait être considérée comme le centrosome. Nous ne pouvons rien voir, non plus, des phases de la division du centrosome et nous devons nous borner à dire qu'à un certain moment, au lieu d'un unique centre d'irradiation, il y en a deux, disposés de chaque côté du noyau et reliés entr'eux par un fuseau achromatique. Par analogie avec tout ce qu'on

connaît sur la division cellulaire en général, il est bien évident que ce sont deux centrosomes.

Ce qui attire immédiatement l'attention, c'est la similitude complète entre la figure de division du noyau amphimixique et celle du noyau purement spermatique. Ce sont deux caryocinèses normales. Il faut mentionner cependant que la figure de division du noyau amphimixique est un peu plus grande, ainsi que le montre la comparaison des figures 25 et 26 qui ont été faites à la chambre claire ; mais cette différence minime, probablement en rapport avec la masse du noyau en division, n'a acune influence sur la suite du développement ; il s'agit bien de deux mitoses d'égale valeur. On remarquera aussi leur synchronisme parfait ; l'aspect des noyaux est le même, à cette différence près que les pronuclei qui ont copulé se sont déformés l'un l'autre et allongés parallèlement à l'axe du fuseau.

Si on étudie des œufs un peu plus âgés, fixés environ 3 heures ou 3 $^1/_2$ heures après la fécondation, on ne retrouve plus les noyaux mais on voit, à leur place, un paquet de minces filaments chromatiques bien colorés et couchés sur le fuseau de division (pl. VIII, fig. 13). Malgré tous mes efforts, il m'a été impossible, même aux plus forts grossissements, de séparer ces filaments et d'en faire la numération ; dès ce stade, on ne peut plus dire où se trouve le noyau amphimixique, et cela fait encore ressortir l'analogie complète entre la façon dont il se divise et celle dont se divisent les noyaux purement spermatiques.

D'une façon générale, les deux ou les trois figures de division sont loin d'être réunies sur la même coupe ; pour les comparer il faut alors faire une reconstitution de plusieurs coupes sur un plan unique, et c'est ce qui a été fait pour les figures que nous donnons ; la fig. 13 fait seule exception : par un heureux hasard, les trois mitoses se trouvent réunies sur une même coupe ; leur disposition est tout à fait typique, les asters d'une netteté remarquable ; à noter aussi, comme sur d'autres œufs d'ailleurs, la persistance des énergides,

toujours aussi nettement séparées et étrangères l'une à l'autre.

Les traînées pigmentaires sont encore bien visibles également et leur extrémité est très nettement bifurquée dès la constitution des amas chromatiques ; la photo 30 pl. IX, montre que cette bifurcation s'accentue et qu'une formation de pigment accompagne, par conséquent, non seulement le voyage du pronucleus mâle à travers l'œuf, mais aussi le déplacement des deux noyaux issus de sa division.

A des stades encore un peu plus avancés, on voit, comme dans les conditions normales, chaque mitose être finalement coupée, perpendiculairement à l'axe du fuseau, par un plan de segmentation qui débute à la surface de l'œuf, gagne progressivement le centre et y rejoint chacun des plans qui ont coupé les autres mitoses.

La première segmentation est achevée. L'œuf dispermique est maintenant formé de deux cellules contenant chacune deux noyaux en voie de reconstitution et deux demi-énergides spermatiques ; l'un de ces deux noyaux est constitué comme le noyau amphimixique de l'œuf normal, l'autre est d'origine exclusivement spermatique. Dans l'œuf trispermique, il se forme trois cellules, également binucléées, mais de qualités différentes : deux ont des noyaux qui sont l'un amphimixique, l'autre mâle, mais la troisième cellule ne renferme que deux noyaux mâles, provenant de deux spermatozoïdes différents.

Le premier point à mettre en évidence, c'est que *dans l'œuf di- ou trispermique de* Rana fusca, *noyau amphimixique et noyau spermatique*, ou, pour employer une expression commode, *amphicaryon et monocaryons se divisent de la même façon et en même temps et chaque division de l'un ou l'autre entraîne, au même titre, une segmentation de l'œuf.*

Nous allons examiner maintenant quelques questions d'ordre général que soulèvent les particularités de cette segmentation.

§ 2. — Analyse particulière de quelques détails de la segmentation des œufs di- et trispermiques.

A. *Orientation des fuseaux.*

Quels que soient les œufs que l'on examine, on constate toujours que, s'ils sont dispermiques, les fuseaux nucléaires ont une tendance manifeste à se disposer parallèlement (fig. 11), tandis que s'ils sont trispermiques, les fuseaux tendent à se placer de telle sorte (fig. 13) que leurs axes, suffisamment prolongés, formeraient un triangle. Notre matériel ne nous a pas donné un seul exemple d'une disposition autre que ces deux-là ; j'aurai à comparer ces résultats avec ceux des observations de Boveri, de Teichmann, qui ont décrit d'autres positions des fuseaux mais, pour le moment, je me borne à faire remarquer qu'il est de toute évidence qu'une loi générale détermine la place occupée par les figures de division dans ces œufs. Cherchons à la préciser.

On sait, surtout depuis les travaux d'O. Hertwig (95-09), que lorsqu'une cellule se prépare à la division, le sens dans lequel se fera cette division n'est pas quelconque, mais déterminé par la forme même de cette cellule. Une règle générale connue sous le nom de loi d'O. Hertwig, dit que " les deux pôles de la figure de division viennent se placer dans la direction de la plus grande masse de protoplasme „ (94, trad. française 1894, p. 205). Il s'ensuit que lorsqu'une cellule sphérique se divise, le fuseau pourra se disposer dans le sens d'un diamètre quelconque ; au contraire, s'il s'agit d'une cellule de forme ovoïde, le fuseau nucléaire se place suivant le plus grand axe de la masse protoplasmique.

L'œuf de grenouille étant sphérique, il semble donc, à première vue, qu'on ne puisse faire appel à la loi de Hertwig pour expliquer la position aussi constante des fuseaux dans les œufs dispermiques et surtout celle qu'ils occupent dans l'œuf trispermique.

Mais la forme de l'œuf entier importe peu; ce qu'il faut

considérer ici, c'est l'ambiance protoplasmique immédiate du noyau en division. Examinons d'abord les oeufs dispermiques : l'aspect même des figures (pl. VIII, fig. 9 et 11) suffit à montrer que si l'oeuf est sphérique, les énergides spermatiques sont déformées l'une par l'autre, ainsi qu'il a été dit au chapitre 1er ; elles se moulent l'une sur l'autre et finissent par représenter deux masses protoplasmiques bien distinctes et de forme sensiblement ovoïde, avec un axe plus grand que tous les autres. Le noyau qu'elles contiennent ne ressent d'autres influences, avons-nous vu, que celles qui se manifestent dans ce territoire-là du protoplasme de l'oeuf et est complètement étranger à ce qui se passe dans l'autre énergide ; lorsqu'il se divisera, il subira les mêmes actions que s'il se divisait dans une masse protoplasmique ovoïde quelconque et l'axe du fuseau correspondra au plus grand axe de cette masse. Les choses se passant de même dans l'autre énergide, les deux figures de division d'un oeuf dispermique sont forcément parallèles. La loi de Hertwig reçoit ici une nouvelle confirmation.

Les choses sont plus compliquées dans l'oeuf trispermique. Ici aussi les énergides spermatiques, en se moulant l'une sur l'autre, arrivent à constituer des masses protoplasmiques de forme déterminée. La fig. 13, pl. VIII, qui les représente en coupe, leur donne l'aspect plus ou moins net de triangles dont la base est courbe. Lorsqu'on cherche à se les représenter non plus en coupe, mais en totalité et dans leur forme réelle, qu'on peut comparer à de gros quartiers d'orange, on a quelque difficulté à établir la direction de leur axe le plus long. Mais il ne faut pas oublier que les énergides spermatiques ne s'étendent guère en dessous de l'équateur de l'oeuf et que, par conséquent, leur axe le plus long n'est pas, comme il semble à première vue, parallèle à l'axe bipolaire de l'oeuf. Comme O. Hertwig (94) l'a montré, dans un oeuf à segmentation inégale comme l'est celui de la grenouille, le protoplasme s'accumule surtout dans l'hémisphère supérieur, et le deutoplasme ou vitellus surtout dans l'hémisphère inférieur ; représentons-nous cette masse de protoplasme répartie entre trois énergides et

nous arriverons à concevoir celles-ci comme sensiblement ovoïdes, un peu déformées l'une par l'autre, mais ayant nettement leur plus grand axe parallèle au plan équatorial et dirigé perpendiculairement au rayon mené par son milieu. Il suffit de jeter un coup d'oeil sur les " triangles „ de la fig. 13 pour se convaincre de la direction de l'axe des énergides spermatiques; on constate que les figures de division occupent précisément cette position, de telle sorte que la loi de Hertwig se vérifie finalement aussi bien pour les oeufs trispermiques que pour les oeufs dispermiques.

Il importe de faire remarquer que les formes prises par les énergides spermatiques n'ont rien de commun avec les formes " géométriques „ correspondantes, dont elles ne font que rappeler vaguement l'aspect, en permettant de les décrire d'un seul mot; de même, il va de soi que lorsqu'on parle de leur plus grand axe, c'est simplement un à peu près; la plupart du temps, les figures de division sont dirigées un peu en dehors de cette ligne ou obliquement, et la loi de Hertwig doit être comprise dans le sens d'une *simple tendance* des fuseaux nucléaires à se placer dans cette direction; ce n'est qu'en faisant ces restrictions indispensables que cette loi conserve sa valeur générale. La plupart des auteurs qui ont signalé des exceptions à la loi de Hertwig l'ont prise, à tort, dans un sens aussi étroit que s'il s'agissait d'une loi de mécanique pure (1).

Il est aussi très important de ne pas oublier, dans les questions d'orientations de fuseaux, de tenir compte de la loi de Balfour (80) qui, particulièrement dans un oeuf riche en deutoplasme comme l'est celui de *Rana*, met en lumière l'obstacle relatif que ce deutoplasme oppose d'une façon générale à tout phénomène de dynamique cellulaire. Il n'est pas douteux que la loi de Hertwig, par exemple, est d'autant plus approchée

(1) Loeb (08), également, pense que les exceptions à cette loi doivent probablement se rapporter à une action de la couche protoplasmique périnucléaire et non à la forme de la cellule entière.

que le fuseau nucléaire s'édifie dans une région de l'oeuf plus riche en protoplasme, et où de gros grains vitellins n'empêchent pas celui-ci d'exercer directement son influence sur le noyau en division.

Nous avons dit plus haut qu'en ce qui concerne les oeufs dispermiques, nos observations ne concordaient pas avec celles de Boveri et de Teichmann, sur les oeufs d'Echinodermes. Ces deux auteurs ont en effet obtenu, mais toujours dans un petit nombre de cas, des oeufs où les quatre sphères attractives occupaient les sommets d'un tétraèdre au lieu d'être parallèles, deux à deux dans un même plan. Driesch (93) le premier a signalé cette forme particulière de caryocinèse, qui, jusqu'à présent, ne s'est pas rencontrée dans nos expériences.

Éliminons immédiatement les observations de Driesch et de Boveri, où la fécondation se passe de toute autre façon que dans l'oeuf dispermique de grenouille ; les deux spermatozoïdes ayant copulé, il en résulte non pas deux fuseaux distincts, mais une figure tétrapolaire dont les conditions ne sont plus du tout les mêmes. Dans les cas de " Doppelspindeltypus „ décrits par Boveri, où il y a deux fuseaux distincts, le parallélisme de ceux-ci est la règle.

Les expériences de Teichmann (03) doivent être classées en deux groupes. Dans une première série, il opère sur des oeufs normaux et empêche le premier sillon de se produire, tout en laissant le noyau de segmentation se diviser. On sait, notamment depuis les expériences de Demoor (94), qu'une pareille dissociation des phénomènes nucléaires et protoplasmiques de la division cellulaire est obtenue par l'action de toute une série de facteurs physiques et chimiques. Teichmann a utilisé le froid, des secousses répétées et l'action de l'éther en solution à 2 $^1/_2$ %. L'oeuf contient donc après ces manipulations deux noyaux, et, lorsque la deuxième division se prépare, deux figures de division. Dans la grande majorité des cas, ces fuseaux, d'ailleurs complètement indépendants l'un de l'autre, s'orientent parallèlement ; dans quelques cas seulement, et chez des oeufs élevés en milieu privé de calcium, ces fuseaux sont

croisés et reproduisent le type en tétraèdre. Oeufs normaux d'une part, manipulations violentes d'autre part, rendent la comparaison difficile avec les oeufs dispermiques de grenouille.

Dans une deuxième série de recherches, Teichmann étudie des oeufs d'oursin dispermiques, obtenus, comme ceux de Boveri, par fécondation artificielle avec du sperme très concentré. Il retrouve les différentes formes signalées par Boveri et, notamment, quelques " Doppelspindeltypus „ ; l'intérêt de son observation est qu'il en a trouvé qui avaient les deux fuseaux disposés en tétraèdre; à la première segmentation, ces oeufs se sont d'emblée divisés en quatre blastomères uninucléés. Il n'y a rien d'impossible à ce que cette disposition se montre un jour dans un oeuf dispermique de grenouille, mais certaines conditions examinées plus loin devront être réalisées au préalable.

Enfin Teichmann a observé quelques oeufs trispermiques entièrement comparables aux nôtres, avec un seul spermatozoïde copulant et les deux autres se divisant pour leur propre compte ; les trois fuseaux se sont orientés exactement de la même façon que dans l'oeuf trispermique de grenouille et la comparaison entre ces oeufs si différents à tous les autres points de vue doit être signalée.

Boveri et Teichmann se sont posé la question de savoir pourquoi les figures de division des oeufs dispermiques avaient, dans l'immense majorité des cas, cette tendance à se rassembler sur un même plan horizontal, voisin du plan de l'équateur et à s'y orienter parallèlement. Tous deux signalent que ce parallélisme n'est pas expliqué par la loi de Hertwig ; nous avons vu plus haut qu'en réalité cette loi s'y applique parfaitement si on considère le milieu protoplasmique réel dans lequel se forme chaque fuseau. Quant à leur réunion dans un même plan ou à peu près, je l'ai constatée également dans la majorité des oeufs de *Rana*.

Boveri (07) lui donne le nom de plan caryocinétique ; nous citerons le passage en entier : " (p. 14). Das Ei besitzt eine „ bestimmte, in der Nähe des Aequators oder in ihm selbst

„ gelegene Ebene, welche alle in der ersten Teilungsperiode
„ vorhandenen Zentren in sich aufzunehmen sucht. In ihr
„ liegen die 2 Zentren des Amphiasters, aber auch, wie oben
„ berichtet, die 4 Zentren des ebenen Tetastrers, ja auch die 6
„ Pole eines trispermen Eier habe ich einmal in dieser Ebene
„ gefunden. Welche Kraft die Zentren in dieser Ebene hält,
„ ist uns unbekannt ; nur so viel können wir aus der Pigmen-
„ tierung des Strongylocentrotus Eies ableiten, dass das
„ Eiplasma senkrecht zur Achse geschichtet ist, also stofflich
„ differente Zonen enthält, und dass die Zone, welche wir *als*
„ *karyokinetische Ebene* bezeichnen eine besondere Attraktion
„ auf die Cytozentren ausübt „.

Cette notion d'un plan prédestiné à la caryocinèse est admise et appliquée également par Teichmann (03) : " p. 254 : in den „ meisten Fällen.... die Spindeln liegen parallel zu einander in „ der karyokinetischen Ebene. „

Boveri dit qu'il ignore la nature de la force qui attire les fuseaux dans ce plan ; j'ai cherché à élucider le problème en me reportant aux conditions de la pénétration des spermatozoïdes dans l'oeuf. Il a été démontré que le développement des énergides, qui accompagne cette pénétration, tend à être maximum. Il en résulte que leur centre de figure, où se trouve le noyau et le centrosome, et où va se former le fuseau, sera d'autant plus rapproché du plan équatorial de l'oeuf que l'énergide sera plus développée. Or, dans les oeufs dispermiques et trispermiques, le cas le plus fréquent est celui où les deux ou les trois énergides ont à peu près le même développement et on conçoit dès lors très bien que leurs centres, avec le noyau et le centrosome, soient sensiblement sur le même plan par rapport à l'équateur Un *plan caryocinétique* prend ainsi naissance, si on donne à ce mot le sens précisé par Boveri, mais il n'est qu'une résultante des conditions dans lesquelles s'est effectuée la pénétration des spermatozoïdes. On comprend très bien également que, dans l'oeuf monospermique, la situation du fuseau par rapport au plan équatorial varie peu d'un oeuf à un autre ; il n'y a ici qu'une seule énergide; notre matériel nous a permis de nous

assurer qu'elle avait les mêmes caractères que dans l'oeuf di- ou trispermique : elle se développe au maximum, envahit la totalité de l'oeuf jusqu'au moment où elle vient se buter au vitellus inerte accumulé dans l'hémisphère inférieur et son centre de figure occupera toujours à peu près la même place.

J'ai constaté également, principalement dans les oeufs dispermiques où le cas est plus fréquent, que lorsque les énergides spermatiques sont fortement inégales, les deux fuseaux occupent des niveaux très différents par rapport au plan équatorial, et qu'il ne peut plus être question d'un plan caryocinétique, mais l'observation comporte encore une autre conclusion : lorsque deux énergides sont ainsi presque superposées, leurs grands axes ne sont plus *forcément* parallèles, ni les fuseaux non plus par conséquent et c'est dans ce cas qu'une disposition en " tétraèdre „ pourrait se rencontrer dans l'oeuf dispermique de grenouille.

Un plan caryocinétique existe donc le plus souvent dans l'oeuf d'Amphibien comme dans l'oeuf d'Echinoderme. Nous avons vu que, pour la grenouille, sa position dépend des conditions dans lesquelles s'est formée l'énergide spermatique. Or celle-ci n'est que la manifestation tangible de l'activité du centrosome ; elle a été retrouvée et décrite sous d'autres noms (Verdichtungszonen, territoires périnucléaires, etc) chez nombre d'espèces appartenant à des groupes très différents : Sélaciens, Reptiles, Annélides. En tous cas le centrosome ne manque jamais ; c'est en rappelant ces faits que je crois pouvoir généraliser et appliquer aux oeufs d'Echinodermes la même origine du plan caryocinétique que pour les oeufs de grenouille : la " force „ dont parle Boveri est simplement un effet de l'activité des centrosomes.

*Dans la position occupée, à l'intérieur de l'œuf di- ou trispermique, par les figures de division, il y a lieu de distinguer : 1°) leur position par rapport au plan équatorial, qui dépend du développement relatif des énergides spermatiques ; 2°) leur orientation, qui dépend de la forme de ces énergides et suit la loi d'*O. Hertwig.

B. *Causes des variations dans la grandeur des premiers blastomères.*

Nous avons vu que les oeufs dispermiques se divisaient en deux par un plan coupant perpendiculairement les deux fuseaux nucléaires. Le simple examen de la fig. 11, pl. VIII, permet de se rendre compte que le plan de segmentation qui va se produire coïncidera sensiblement avec un diamètre de l'oeuf ; celui-ci sera, par conséquent, divisé en deux blastomères de même grandeur. Si on cherche quelle sera la direction du plan de segmentation dans l'oeuf représenté fig. 9, pl.VIII, on constate que malgré la forte inégalité des énergides spermatiques, on aboutira encore à une division sensiblement égale. Cependant j'ai vu quelques cas, assez rares d'ailleurs, où ces blastomères sont inégaux. Le schéma I, page 184 rend compte de ce qui se

SCHEMA I [1].

passe dans ce cas : on voit que les deux figures de division occupent, pour une cause inconnue, une position légèrement

[1] Les traits interrompus indiquent la direction des plans de segmentation. Nous avons représenté aussi les traînées pigmentaires et quelques-uns des rapports qu'elles peuvent présenter avec les plans de segmentation.

excentrique dans l'oeuf ; leur parallélisme est pourtant parfait et les deux énergides étaient également développées ; on voit que ce léger écart de la position habituelle des fuseaux suffit pour que le plan qui les coupe perpendiculairement divise l'oeuf en deux cellules fortement inégales. La conclusion à tirer, c'est que dans l'oeuf dispermique, l'inégalité des énergides spermatiques n'a pas d'influence sur les dimensions respectives des deux premiers blastomères, dimensions qui ne dépendent que de la position plus ou moins centrale occupée par les deux fuseaux parallèles.

En cherchant la direction des trois plans de segmentation qui diviseront l'oeuf trispermique représenté fig. 13, pl. VIII en trois blastomères, on constate que ces trois cellules seront d'égales dimensions. Au contraire, en faisant la même recherche sur celui représenté dans le schéma II, on arrive à la for-

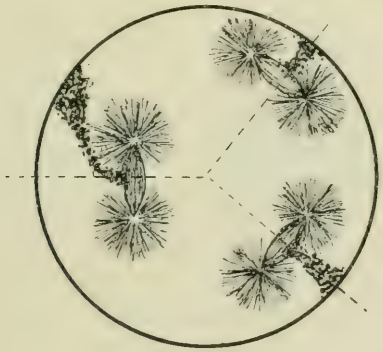


Schéma II

mation de deux cellules à peu près de même grandeur et d'une troisième beaucoup plus petite. Mais dans ce dernier cas les énergides spermatiques sont fortement inégales et le raisonnement le plus élémentaire démontre que dans l'oeuf trispermique, et contrairement à l'oeuf dispermique, l'inégalité des énergides spermatiques entraîne inévitablement l'inégalité des premiers blastomères.

Si on se rappelle que les variations de grandeur entre les énergides sont simplement la suite de pénétrations successives et non pas simultanées des spermatozoïdes, on arrive à cette loi que dans l'oeuf trispermique, la pénétration simultanée des trois spermatozoïdes est la condition nécessaire à la formation de trois blastomères égaux, tandis que dans l'oeuf dispermique, l'égalité des deux blastomères n'est pas liée à la façon dont la pénétration des spermatozoïdes s'est effectuée dans le temps.

C. *Rapports entre les plans de segmentation et les traînées pigmentaires.*

Ces rapports sont très variables. Dans les oeufs dispermiques, trois cas se présentent : le plan de segmentation peut couper les deux traînées pigmentaires (schéma III), n'en

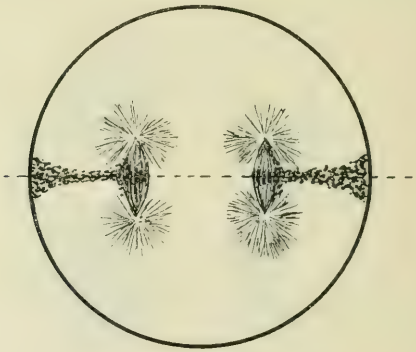


Schéma III.

couper qu'une seule (schéma I) ou ne couper ni l'une ni l'autre. De même, dans les oeufs trispermiques, on rencontre tous les cas possibles (les schémas II et IV en montrent 2 exemples).

La question se pose de savoir quelles sont les conditions nécessaires pour qu'il y ait coïncidence entre un plan de segmentation et une traînée pigmentaire. La division se fait perpendiculairement à l'axe du fuseau ; pour être coupée, la traînée pigmentaire doit, elle aussi, avoir une

direction générale perpendiculaire à cet axe ; cette condition se réalise dans l'une des deux traînées de l'oeuf dispermique

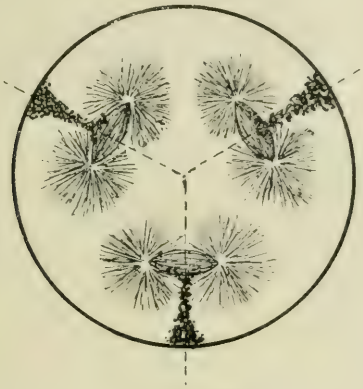


Schéma IV.

(schéma III page 186), dans l'une des trois de l'oeuf trispermique de la fig. 13, pl. VIII et on retrouvera des exemples analogues dans la plupart des cas. Or ces traînées rectilignes indiquent clairement que l'énergide correspondante a pu se développer sur place, sans être refoulée par les autres ; en d'autres termes, le spermatozoïde a pénétré dans l'oeuf en un point situé de telle façon que son centrosome se trouvait d'emblée sensiblement au centre du territoire protoplasmique encore libre de toute influence spermatique et pouvait y développer symétriquement ses irradiations, *sans devoir se déplacer*.

Les conditions réalisées par la seconde traînée pigmentaire de ce même oeuf et, en général, par toutes les traînées qui ne sont pas coupées par un plan de segmentation, sont très différentes. Le trajet curviligne indique un refoulement de l'énergide correspondante par sa voisine ; le point de pénétration du spermatozoïde est situé de telle manière qu'il a fatalement amené le centrosome à un endroit où il a été entravé dans le développement de son activité.

D'après cela, on peut très bien se rendre compte de la disposition si caractéristique de beaucoup d'oeufs surtout

trispermiques, (v. fig. 13 pl. VIII et les schémas dans le texte III et IV) où les traînées forment une figure symétrique ; les trois points de pénétration sont *équidistants,* les trois centrosomes ont été d'emblée amenés au centre de leur zône d'influence, aucune déviation ne s'est produite dans les traînées pigmentaires, qui sont toutes trois coupées par les plans de segmentation.

Dans un oeuf dispermique les mêmes conditions se réalisent si les points de pénétration sont *diamétralement opposés.* Mais dans les deux cas, la position " méridienne „ de ces points est seule importante et leur position par rapport à l'équateur de l'oeuf ne l'est pas.

CHAPITRE IV.

Allure générale de la segmentation.

Nous allons parcourir rapidement la série des divisions qui amènent l'oeuf jusqu'au début de la gastrulation, en les étudiant d'abord au point de vue des formes extérieures, puis en nous aidant de l'examen des coupes.

On a déjà pu voir, par la manière dont se fait la première division, que les oeufs dispermiques diffèrent maintenant assez bien des oeufs trispermiques. Pour les premiers stades de la segmentation, il est nécessaire de les étudier séparément mais, dès que celle-ci est un peu avancée, dès le " stade „ morula, pareille distinction devient inutile et amènerait de continuelles redites.

§ 1. — Etude des formes extérieures.

A) *Œufs dispermiques.*

La deuxième division des oeufs dispermiques est de beaucoup la plus intéressante, à tous les points de vue ; c'est elle qui permet de les distinguer désormais des oeufs normaux ; nous verrons dans un autre chapitre qu'elle constitue aussi

l'un des plus intéressants phénomènes de régulation du nombre des noyaux.

L'aspect de l'œuf à ce moment est tout à fait caractéristique et la fig. 59, pl. XI, en donne parfaitement l'image. En même temps qu'apparaît chez l'œuf monospermique le deuxième sillon vertical, on voit ici se dessiner deux plans de segmentation parallèles, qui coupent perpendiculairement celui de la première division en deux points plus ou moins rapprochés. Ces nouveaux sillons ne sont pas des méridiens et laissent le pôle supérieur de l'œuf entr'eux ; c'est là un fait à retenir. Ils se dirigent progressivement vers le pôle inférieur tout en convergeant sensiblement l'un vers l'autre. Leur aspect, leur profondeur, sont absolument comparables à ceux des sillons habituels ; ils suivent la même marche et, dans la plupart des cas, sont complètement achevés lorsque débute la troisième division.

Il faut dire cependant que cette description est celle des cas les plus typiques ; on peut constater de nombreuses variations ; parfois il n'y a que cinq sillons qui soient bien nets, ou bien leur trajet est différent et les cellules qu'ils délimitent très inégales. Pour éviter toute cause d'erreurs, je n'ai laissé en vie que les cas typiques, aussi nets que celui que représente la fig. 59. Les autres étaient aussitôt fixés ; mais, d'une façon absolument constante, leur étude microscopique m'a démontré qu'ils étaient dispermiques également, que des œufs qui se divisent d'abord en deux puis en six blastomères plus ou moins nettement indiqués peuvent sans crainte être considérés comme tels.

Les différences qui existent déjà entre les œufs à la deuxième division, s'accentuent lors de la troisième, au point qu'on peut dire qu'à ce moment il n'y a pas deux œufs dispermiques qui soient entièrement semblables. En faire une description générale est donc impossible et on ne peut que citer quelques exemples. Dans la fig. 64, l'œuf est vu de profil ; on reconnaît encore le premier sillon, qui traverse le dessin de

haut en bas et de gauche à droite en passant par le pôle blanc de l'œuf. L'un des deux sillons de la deuxième division le coupe à peu près perpendiculairement, au centre de la figure ; l'autre, qui n'est pas visible sur le dessin, le coupe en haut et à gauche, sa direction étant approximativement dans le plan du papier et un peu au delà du pôle supérieur (ou noir) de l'œuf. Ces points de repère établis, on remarque immédiatement les dimensions inégales des cellules. On peut se rendre compte également de la façon dont s'effectue la troisième division. La grande cellule que l'on aperçoit en bas et à gauche correspond à l'une des deux cellules qui sont au milieu dans la fig. 59 ; elle est sur le point de se diviser en deux, par un sillon parallèle au premier sillon vertical, celui de la première division. La cellule qui est en bas et à droite sur le dessin et qui s'étend jusqu'au pôle blanc, ne présente encore aucune trace de division. En haut et à gauche, de l'autre côté du sillon de la première division, s'aperçoit un groupe de trois petites cellules qui se sont formées en même temps aux dépens d'une cellule unique, qui était l'homologue de la grande cellule où s'amorce une division en deux (en bas et à gauche). Immédiatement à droite s'aperçoivent deux cellules de grandeur inégale, dont l'une, qu'on ne voit qu'en partie, s'étend jusqu'au pôle blanc ; ces deux cellules proviennent de l'homologue de la cellule décrite plus haut, et où aucune trace de segmentation n'apparaissait. Ce qu'on aperçoit encore appartient à la partie de l'œuf qui n'est pas visible sur le dessin ; mais j'ai noté que des deux cellules restantes, l'une s'était complètement divisée en deux par un plan parallèle à l'équateur de l'œuf et que l'autre était encore indivise. Lors de la troisième division cet œuf dispermique s'était donc segmenté en *onze cellules*.

La description d'un grand nombre d'oeufs à ce stade serait inutile et il est d'ailleurs assez rare de pouvoir les repérer aussi exactement. J'en ai trouvé qui s'étaient segmentés en 11, 13, 9, 10 cellules. Quant à la répartition des noyaux, amphi- et monocaryons, à l'intérieur de ces cellules, seul l'examen des coupes pourra nous donner des renseignements précis.

Pour le moment, le seul fait à retenir, c'est la *variabilité dans le nombre, la forme et la grandeur* des cellules qui prennent naissance dans les premières segmentations de l'oeuf. Il n'y a aucune loi générale qui règle ni la direction ni le nombre des plans de segmentation. Cette direction est, nous le verrons, déterminée par un ensemble de circonstances particulières pour chaque cellule individuellement. Le seul résultat que l'on puisse constater à la fois sur tous les oeufs, c'est un simple *morcèlement* des blastomères en fragments de grandeur et de forme variables.

Une fois la quatrième division effectuée, il n'est plus possible de retrouver l'origine des nombreuses cellules que l'on observe et de reconstruire le plan primitif de l'oeuf; on se trouve devant une sorte de petite morula (fig. 65) régulièrement arrondie et formée d'un ensemble de cellules de forme et de grandeur variées. Cependant, dans la majorité des cas, on peut déjà constater que les cellules les plus grosses se rencontrent *surtout* en dessous de l'équateur de l'oeuf et les plus petites *surtout* au-dessus. Mais à aucun moment on ne rencontre quelque chose qui rappelle les 4 micromères et les 4 macromères si nettement différents dans l'oeuf de grenouille normal.

B) *Œufs trispermiques.*

Lors de leur première division, les oeufs trispermiques se reconnaissent immédiatement. Les trois sillons qui se forment se rencontrent généralement au pôle supérieur même de l'oeuf, ou en un point très voisin (fig. 61, pl. XI); de là ils se dirigent vers le pôle blanc et, dans la majorité des cas, on voit que ces trois sillons ont la même valeur, progressent avec la même vitesse et atteignent tous trois la partie inférieure de l'oeuf, où ils se rejoignent, en même temps que le sillon unique des œufs normaux et dispermiques atteint le pôle inférieur lui aussi; ils ont donc, *à eux trois*, exactement la même significaque le premier sillon des œufs normaux (v. les fig. 62 et 63).

Dès la seconde division, les œufs trispermiques présentent cette variabilité infinie que les dispermiques ne montrent, en

général, qu'à la division suivante. Les plans de segmentation sont les uns verticaux, les autres horizontaux, beaucoup ont une direction oblique. Il est même impossible de dire que tel ou tel mode de division est plus fréquent que d'autres. J'ai vu la division d'un blastomère en trois cellules égales ou inégales, par trois plans verticaux ; dans d'autres cas, deux plans seulement étaient verticaux, le troisième oblique ou horizontal, ou bien le blastomère ne donnait naissance qu'à deux cellules ou restait même entier jusqu'à la division suivante. On comprend donc qu'il soit difficile, quand on se trouve devant un œuf trispermique à la deuxième division, de reconnaître ce qui appartient à chacun des trois premiers blastomères; on est réduit alors à compter les cellules qui ont pris naissance ; ce nombre varie entre 5 et 9 et les cellules ont des dimensions très variables.

A la troisième division déjà (v. fig. 66, pl. XI) on se trouve en présence d'une petite morula qui présente la même tendance, déjà décrite pour les dispermiques, à ce que les cellules supérieures soient surtout des petites cellules et les inférieures surtout des grosses. On remarque aussi que certains sillons semblent beaucoup moins profonds que d'autres. La fig. 66 en montre plusieurs.

Dans leur évolution ultérieure, il devient impossible de distinguer les œufs dispermiques des trispermiques. Les cellules augmentent rapidement de nombre, tout en diminuant de volume ; il n'y a là rien qui mérite une description spéciale : c'est simplement le morcèlement progressif de l'œuf. Généralement, 15 à 20 heures après la fécondation, la surface de celui-ci semble redevenue aussi lisse qu'avant le début de la segmentation ; ce n'est qu'à la loupe qu'on peut y distinguer d'innombrables petites cellules serrées l'une contre l'autre (fig. 67, pl. XI).

La fig. 69 représente un œuf dispermique âgé de 24 heures ; c'est une jeune gastrula présentant, à la limite de la partie pigmentée, le mince liseré caractéristique du début de l'invagination archentérique. La fig. 70 représente le même stade chez un oeuf trispermique. L'intérêt de ces deux formes est

qu'il serait impossible de les distinguer des gastrulas normales du même âge et il n'y a pourtant aucun doute, je puis l'affirmer, relativement à leur origine. La répartition des cellules est identique; très petites au sommet de l'hémisphère pigmenté de l'oeuf, elles augmentent progressivement de volume aux environs de l'équateur, en constituant là une " zone marginale „ absolument typique ; plus bas enfin ce sont de grosses cellules vitellines, polygonales, visibles à l'oeil nu.

A côté de ces oeufs di- et trispermiques dont l'évolution semble, à première vue, devoir aboutir au même résultat qu'une segmentation régulière, il en est d'autres qui, dès le stade blastula, montrent des particularités bien caractéristiques ; les fig. 78, pl. X et 71, pl. XI représentent, la première une blastula provenant d'un oeuf dispermique âgé de 20 heures $^1/_2$, la seconde l'hémisphère supérieur d'une blastula de 24 heures et provenant d'un oeuf trispermique. On remarque, par-ci par-là, des plages insegmentées, légèrement en saillie à la surface. Tantôt (fig. 71-67) ce sont simplement de grosses cellules, tantôt (fig. 68) c'est une moitié entière de l'oeuf, ou même davantage. Lorsque ces parties non segmentées sont très étendues, on y voit (fig. 68) des signes manifestes de dégénérescence ou de nécrose, une teinte grisâtre et surtout des traînées, des sortes de nuages de pigment, qui envahissent irrégulièrement la partie blanche.

Les autres parties de ces blastulas ressemblent tout à fait aux blastulas normales. Les cellules sont pareilles, de dimensions insensiblement croissantes vers le pôle inférieur de l'oeuf.

Ce qu'il faut surtout retenir de cette étude des formes extérieures, c'est que malgré l'infinie variété qui se montre dans la façon dont se fait la segmentation, chez les oeufs dispermiques et trispermiques, malgré la différence profonde entre cette division baroque (" Barockfurchung „) et la segmentation méthodique de l'oeuf normal, on est invariablement conduit, et dès les premiers stades du développement, à la même structure, à un morcèlement identique de l'oeuf en cellules de plus en plus petites, à la formation de blastulas semblables à un même âge

et présentant, avec une égale netteté, la localisation de cellules plus volumineuses à la partie inférieure de l'oeuf.

§ 2. — Étude des coupes.

A) *Œufs dispermiques.*

Nous avons laissé les oeufs dispermiques au moment où les deux fuseaux de la première division sont définitivement orientés parallèment; les deux mitoses évoluent normalement et les noyaux provenant de ces divisions se reconstituent, au nombre de deux, avons-nous vu, dans chacun des deux blastomères. Il semble qu'il n'y ait guère de période de repos (ou en tous cas, si elle existe, elle doit être très courte), entre le moment où les noyaux sont reconstitués et celui où commence la deuxième division.

La figure 12, pl. VIII et, aussi la photographie n° 31, pl. IX, nous montrent comment cette division se produit. Il s'agit ici d'un oeuf divisé en deux blastomères légèrement inégaux et coupés un peu obliquement. Mais on voit très nettement que dans chaque blastomère s'édifient deux fuseaux absolument indépendants. Ces quatre figures de division sont au même stade et le synchronisme qui existait lors de la première segmentation persiste ici et se retrouvera, d'ailleurs, encore pendant longtemps.

Le grand intérêt de cet oeuf réside dans l'orientation des fuseaux (la fig. 12 les a rétablis à leur place réelle, en tenant compte de l'obliquité des coupes). Les axes de ces figures de division sont sensiblement perpendiculaires à ceux des deux premiers fuseaux qui se sont édifiés dans l'oeuf après la fécondation; il s'est produit un véritable pivotement de 90° dans leur direction. Par contre les nouvelles figures de division sont, à part de légères obliquités, encore dans le même plan parallèle au plan équatorial. Leur position explique donc parfaitement ce que nous avons trouvé, en étudiant les formes extérieures de l'oeuf, lorsque des plans de segmentation sont venus couper ces fuseaux perpendiculairement à leur axe.

On remarquera, en passant, combien cette orientation nouvelle des fuseaux suit encore strictement la loi d'O. Hertwig et s'explique ici par la forme des blastomères. Quant aux énergides spermatiques, dont la forme avait déterminé l'orientation des figures de division précédentes (v. fig. 11, pl. VIII), le premier plan de segmentation les a coupées en deux; chacun des premiers blastomères a reçu, par conséquent, deux demi-énergides. Dès ce moment on les voit s'estomper, se confondre et disparaître petit à petit; elles n'ont plus aucune raison d'être; nous l'avons vu, elles ne sont que l'expression de l'activité des centrosomes spermatiques; mais ceux-ci, maintenant, se sont divisés, leurs irradiations n'ont plus de " centres „; elles disparaissent et de nouvelles les remplacent, qui sont produites par les centrosomes qui proviennent des premiers.

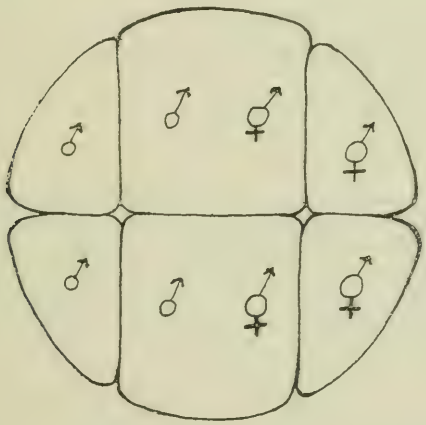


Schéma V.

Le résultat de la deuxième division chez les œufs dispermiques est donc la formation de six cellules, dont deux, au centre, sont binucléées, les deux noyaux étant l'un amphicaryon, l'autre monocaryon, tandis que les quatre autres cellules sont mononucléées; mais deux d'entr'elles renferment chacune un amphicaryon, les deux autres chacune un monocaryon (voir le schéma V).

La figure 15, pl. VIII, représente la coupe suivant le plan équatorial d'un oeuf dispermique divisé complètement en six cellules et se préparant à la troisième division. L'oeuf a été un peu déformé par le rasoir, ce qui explique sa forme ovale ; j'ai rapporté les figures de division sur ce plan unique, en indiquant autant que possible leur orientation. D'après celle-ci on se rend compte que cet oeuf aurait déjà présenté, après la troisième division, un ensemble de douze cellules de grandeurs différentes ; les unes auraient été mononucléées, les autres binucléées, c'est ce que nous aurons à établir avec précision quand nous parlerons des phénomènes de réglage du nombre des noyaux.

Si nous donnions ici une description semblable d'autres oeufs dispermiques, nous aurions autant de dispositions différentes et la variabilité que nous avons constatée dans les formes extérieures se retrouverait ici. De même, pour les stades plus âgés, nous nous dispenserons d'étudier séparément les oeufs dispermiques et les trispermiques.

B) *Œufs trispermiques.*

Dans l'oeuf trispermique, les choses sont aussi compliquées dès la deuxième division que lors de la troisième pour les oeufs dispermiques. Tout leur intérêt réside dans les phénomènes de réglage et nous les laisserons momentanément de côté. La fig. 14, pl. VIII, qui représente cette division, n'a du reste pas besoin de commentaires.

Une fois la troisième division effectuée, on se trouve en présence d'une petite morula, dont le schéma VI, D, page 210, donne une idée.

Si on poursuit l'étude des coupes pour des stades de plus en plus âgés, la même analogie complète se rencontre, comme dans les formes extérieures, entre oeufs dispermiques et trispermiques. C'est le même morcèlement progressif en cellules de moins en moins dissemblables, par leur forme et leur grandeur. La figure 16 pl. VIII représente la coupe d'un oeuf trispermique âgé de 9 heures ; parmi les nombreuses cellules qui sont, en

immense majorité, mononucléées, se retrouvent çà et là des parties non segmentées, absolument comparables à celles que nous avons rencontrées à la surface, et présentant, de même, une importance plus ou moins grande.

La fig. 51 pl. X représente la coupe sagittale d'une blastula âgée de 19 heures et provenant d'un oeuf trispermique. La cavité de segmentation est complètement formée mais sa voûte est effondrée et forme une sorte d'invagination ; cette déformation est purement accidentelle et due aux manipulations de la fixation et de la déshydratation des œufs ; on la rencontre fréquemment chez des blastulas normales ; O. Hertwig (92) et d'autres l'ont signalée et rattachée à des causes purement accidentelles, notamment S. Ikeda (02). La forme de la cavité, abstraction faite de ce détail, est normale, régulièrement arrondie. Les cellules de la voûte sont petites, égales entr'elles et, pour autant qu'on puisse dire, toutes mononucléées. Le plancher est formé au contraire de grosses cellules vitellines qui s'étendent jusqu'au pôle inférieur de l'œuf ; parmi elles on note la présence de cellules plus grosses, qui paraissent contenir au moins deux noyaux ; il est difficile de préciser car, à ce stade, les noyaux se colorent mal. Entre la voûte et le plancher s'étend une zône de transition ou "zône marginale„, où les cellules augmentent progressivement de volume de haut en bas. On voit déjà nettement, cependant, que les petites cellules pigmentées s'étendent plus bas d'un côté que de l'autre, ce qui indique le côté cranial de l'embryon futur (à gauche sur la figure).

En résumé, c'est une blastula normale, avec, peut-être, quelques grosses cellules vitellines bi- ou plurinucléées, et l'identité que nous avons constatée dans les formes extérieures, entre les blastulas de beaucoup d'œufs di- ou trispermiques et les blastulas normales se retrouve aussi dans la structure interne.

Egalement comme dans les formes extérieures, on constatera de nombreuses variations, suivant le plus ou moins d'importance des parties non segmentées (v. fig. 49 et 50). La cavité de segmentation pourra aussi être sensiblement plus petite que

normalement. L'étude détaillée des anomalies les plus intéressantes, la recherche de leurs causes et de leur évolution feront l'objet du chapitre suivant.

C'est à dessein que j'ai écourté le plus possible cette description générale de la segmentation des œufs di- ou trispermiques. Cette segmentation soulève deux ordres de problèmes : nous avons vu qu'il y a des blastulas qui sont, à proprement parler, des blastulas normales, et qu'il y en a d'autres avec des parties insegmentées plus ou moins importantes ; la segmentation peut donc être tantôt pratiquement parfaite, tantôt plus ou moins limitée à certaines parties de l'oeuf. Ce n'est pas sur cette question là que je désire attirer l'attention maintenant.

Au contraire, c'est en faisant une description aussi courte que possible que s'impose avec le plus de force à l'esprit une notion très importante : l'inutilité d'une régularité, d'une marche en un ordre déterminé, dans la succession des divisions de l'œuf. Notre point de départ était un oeuf divisé en trois, ou en six, en neuf, onze cellules, tous nombres inconnus dans la segmentation des œufs monospermiques ; les sillons qui délimitaient ces cellules avaient toutes les orientations imaginables ; à aucun moment, nous l'avons vu, il n'a pu être question de micromères ou de macromères ; rien, en un mot, ne rappelait le schéma habituel de la segmentation si caractéristique de l'œuf normal. Cependant, dès le stade morula, dès qu'une vingtaine ou une trentaine de cellules ont pris naissance, les œufs di- et trispermiques ressemblent de plus en plus aux œufs normaux. La plupart des blastulas qui en proviennent sont entièrement normales, exception faite de quelques parties où se retrouvent des cellules plurinucléées, mais qui sont sans importance. Il a suffi pour arriver à un résultat identique que l'oeuf normal d'un côté, les œufs di- et trispermiques de l'autre, se divisent un certain nombre de fois, se fragmentent en cellules de plus en plus petites ; c'est ce résultat seul qui est important ; c'est lui seul qui permettra la transformation de la blastula en gastrula et la formation des ébauches des organes axiaux de

l'embryon. Mais le moyen que l'oeuf emploie pour y arriver importe peu.

A un certain moment de leur existence, les oeufs di- et trispermiques traversent donc une véritable période d'anarchie, chaque cellule se divisant comme si elle était seule : mais petit à petit réapparait l'unité morphologique de l'oeuf et quelle que soit la façon dont un territoire quelconque de celui-ci s'est morcelé, le groupe de cellules qui le représente dans la blastula y occupera une place bien déterminée, exactement celle occupée par un groupe semblale de cellules, provenant du même territoire de l'oeuf, dans la blastula normale.

La segmentation pure et simple de l'oeuf constitue donc, dans l'évolution de celui-ci, un stade bien caractérisé ; elle le rend capable de donner naissance à un embryon, grâce à une répartition de ses matériaux en groupes de petites cellules, qui pourront être ensuite le siège de phénomènes organogénétiques particuliers, localisés et, dans une certaine mesure, indépendants. C'est, essentiellement, *un phénomène préparatoire à l'embryogenèse.*

C'est un fait digne d'attention que tous les auteurs qui ont étudié des segmentations anormales ont été amenés à conclure, également, que ce processus peut être complètement modifié sans que cela ait la moindre importance au point de vue de la suite du développement. Il en est ainsi, notamment, de tous ceux qui ont étudié les oeufs rendus artificiellement polyspermiques : à côté des anomalies qu'ils voient se produire, O. et R. Hertwig (87), Driesch (93), Th. Boveri (07), Brachet (1910b) insistent sur la marche identique, toujours, de l'ensemble du développement, sur la succession, toujours dans le même ordre, des différents stades, sur le simple morcèlement de l'oeuf qui semble être le seul but de la segmentation, quelle qu'elle soit.

La régularité de ce processus dans le développement de l'oeuf normal n'est d'ailleurs qu'une apparence ; on peut avancer sans crainte que tous les auteurs qui ont cherché à préciser ce qu'il faut entendre par segmentation *normale,* sont

précisément arrivés à constater sa variabilité extrême. Rien qu'en ce qui concerne les Amphibiens, il suffit de rappeler les travaux de Roux, de Kopsch, de Morgan, de Jordan et Eycleshymer, de Brachet, d'O. Hertwig, de Morgan et Boring, d'Eycleshymer, d'Endres, de Maas (01), sur la direction des premiers plans de segmentation de l'oeuf de grenouille.

Les auteurs qui se sont occupés de la signification de la segmentation, R. Hertwig (03, 08) Th. Boveri (05), Driesch (var.), Loeb (92-08), Lillie (06), Godlewski jun. (08), Marcus (06) et d'autres, en sont arrivés à détacher ce phénomène de l'embryogenèse proprement dite. La phrase suivante de Loeb (08, trad. franç. p. 340) exprime parfaitement ce qui doit être la conclusion de tous ces travaux " La segmentation de l'oeuf en plusieurs cellules ne semble avoir que peu ou point de rapports *directs* avec la différenciation de la forme du corps „.

Ce qui est certain, en tous cas, c'est qu'elle respecte la *structure de l'œuf fécondé* et n'altère pas la disposition de ses matériaux constitutifs. Je ne parle pas ici de ce que Roux appelle " le travail de mosaïque „, mais de phénomènes bien plus apparents, accessibles à la seule étude anatomique ; nous avons vu, par exemple, que les énergides spermatiques amenaient la répartition, suivant une certaine façon, des différents pronuclei que contient l'oeuf di- ou trispermique. Dans le cours de la segmentation, ces énergides disparaissent, mais il reste la trace indélébile de leur influence : c'est ce que montre le schéma VI, fig. D, page 210. Il s'agit d'une reconstitution des différentes phases de la segmentation, qui ont transformé un oeuf trispermique en une petite morula. Les trois spermatozoïdes ont été numérotés, de sorte que, à l'intérieur de cette morula, on peut retrouver exactement de quel spermatozoïde provient chaque noyau. Or on voit immédiatement que la répartition de ceux-ci n'a pas changé : il suffit de délimiter les territoires de l'oeuf contenant des noyaux de même origine pour retrouver les trois énergides spermatiques ! Cette répartition est tellement précise que la cellule multinucléée qu'on voit à peu près au centre de l'oeuf, par le seul fait qu'elle empiète à la fois

sur chacune des trois énergides, contient des représentants de chaque espèce de noyaux. Il semble difficile de trouver une meilleure démonstration de ce fait que *la segmentation ne crée rien et se borne à isoler dans chaque cellule une partie déterminée de l'œuf, sans altérer en rien les propriétés que cette partie maintenant " encellulée „ possède de par sa seule situation. La stucture de l'œuf fécondé se transmet intacte à la blastula, à travers tout le cours de la segmentation, quelle qu'elle soit, et c'est devant cette même structure que se trouveront en présence les premiers phénomènes de l'embryogenèse proprement dite.*

CHAPITRE V.

Phénomènes de réglage. Arrêts régionaux de la segmentation.

La première division des œufs di- ou trispermiques donne invariablement naissance à deux ou à trois cellules qui, toutes les deux ou toutes les trois, contiennent deux noyaux et deux centrosomes.

Si on examine une blastula provenant des divisions successives de ces premiers blastomères, on constate que l'immense majorité des cellules ne contiennent qu'un seul noyau et un seul centrosome. Il peut arriver qu'on ne parvienne pas à en trouver d'autres, mais, le plus souvent, à côté de ces cellules mononucléées, on trouve des polycaryocytes plus ou moins importants, généralement en dégénérescence, ou, dans certains cas, de vastes masses indivises contenant jusqu'à 50 ou 100 noyaux ou figures de divisions, celles-ci étant fréquemment polycentriques.

Il n'y a donc pas le moindre doute qu'il intervient, au cours de la segmentation, des phénomènes de *régulation*, qui permettent à des cellules binucléées de donner naissance à des cellules qui ne contiennent plus qu'un seul noyau. C'est là un premier point à éclaircir.

D'autre part, dans la très grande majorité des cas, on

constate l'existence, dès les premiers stades, de parties plus ou moins étendues de l'œuf qui ne se sont pas segmentées, ou ont cessé de le faire à un certain moment, et que caractérise la présence de plusieurs noyaux, en même temps qu'un aspect nettement pathologique. C'est à ces *arrêts locaux de la segmentation* que sera consacré le second paragraphe de ce chapitre.

§ 1. — Phénomènes de réglage.

La deuxième division des œufs dispermiques (v. chap. IV) peut être citée comme une division régulatrice typique : deux figures de division se forment simultanément dans une cellule de forme allongée (car c'est ainsi qu'il faut comprendre la masse de *protoplasme* que contient chaque premier blastomère), s'y orientent suivant le plus grand axe ; la cellule se divise alors en trois : deux des cellules filles sont mononucléées, la troisième, au milieu (v. schéma, p. 195) est binucléée.

Dès leur deuxième division, les œufs dispermiques contiennent donc quatre cellules où le réglage est complet et dont l'ensemble constitue déjà une bonne partie de la masse totale de l'œuf en segmentation.

Or ce résultat est une simple application de la loi de Hertwig, qui a une valeur générale, et on comprend que, dans le cours ultérieur de la segmentation, on puisse le rencontrer également : la figure 16*a*, pl. VIII, montre les préparatifs d'une division analogue dans une cellule d'une jeune morula dispermique : la forme seule de cette cellule rend compte de l'orientation des fuseaux et du réglage qui s'ensuit.

Mais il va de soi que les fuseaux n'ont pas toujours cette orientation suivant un même axe : dans la figure 16*a* ils présentent entr'eux une légère obliquité, mais on aura encore une division régulatrice en trois cellules bien nettes ; les deux plans de segmentation, sans être parallèles, ne se rencontreront pas.

La fig. 19 représente encore une division régulatrice, mais un peu différente en ce sens que les deux plans de segmentation se rencontrent, presqu'à angle droit. C'est la coupe du groupe de trois petites cellules, en voie de séparation, dont il a

été question lors de l'examen de l'œuf représenté en entier fig. 64, pl. XI. Les figures de division sont encore bien nettes et leur orientation rend parfaitement compte de ce qui s'est passé. Dans son travail sur la segmentation des œufs polyspermiques, Brachet (1910*b*) donne la description d'un cas absolument identique (fig. 30, pl. III).

Enfin, dans la figure 20, les deux fuseaux sont presque parallèles; cette cellule se rapproche de ce qu'était l'œuf dispermique lors de sa première division et elle donnera naissance à deux cellules seulement, contenant chacune deux noyaux et deux centrosomes.

La position des fuseaux l'un par rapport à l'autre est donc la condition nécessaire pour obtenir le réglage. Or, cette position relève, en vertu de la loi de Hertwig, de la forme des cellules, de telle sorte que c'est, en dernière analyse, *la forme de la cellule binucléée* qui fera qu'il y aura ou qu'il n'y aura pas réglage.

Cette relation est très importante. Examinons, par exemple, la cellule fig. 20, où il n'y aura pas réglage, parce que les fuseaux sont presque parallèles. Comparons sa forme à celles des deux cellules, binucléées également, à qui elle donnera naissance; nous constatons que celles-ci seront plus allongées, seront donc dans les conditions voulues pour que, lors de leur division, les fuseaux y soient disposés presque en ligne droite, ce qui amènera leur division en trois, division régulatrice par conséquent.

Toute cellule binucléée, en se divisant, subit fatalement tôt ou tard un réglage; *chaque fois qu'elle est amenée par la segmentation à prendre une certaine forme, la partie de l'œuf qui constitue une cellule à deux noyaux devient plus petite, en même temps que deux cellules mononucléées prennent naissance.*

On comprend dès lors que même si un œuf ne présente d'autre procédé de réglage que cette division en trois des cellules binucléées, le nombre des cellules ne contenant qu'un noyau s'élève rapidement dans de grandes proportions et que,

dès les premiers stades, leur ensemble représente la plus grande partie de la masse totale de l'œuf. Il restera toujours quelque part, dans l'œuf, une ou plusieurs cellules contenant plus d'un noyau. Mais cela n'a pas grande importance pour la vie de l'embryon, parce que, dans les cas favorables, leur volume est insignifiant et les différents organes s'édifient presque exclusivement avec des cellules ordinaires; souvent même, en cas de dégénérescence des cellules où le réglage n'a pu se faire, on peut dire exclusivement.

Il y a pourtant un moyen de supprimer du premier coup l'existence d'une cellule binucléée : une division d'emblée en quatre, suivant le processus que Boveri (07), Teichmann (03) et Wilson (01) ont décrit en détail.

Ce n'est que dans un seul cas que j'ai fini par découvrir, chez une morula de 11 heures, provenant d'un œuf dispermique, une cellule binucléée, où l'orientation des fuseaux indiquait manifestement une division en quatre en préparation. La fig. 22 représente cette cellule. C'est un cas typique d'orientation dite " en tétraëdre „.

Je suis très surpris de n'en avoir rencontré que ce seul exemple et je ne m'explique pas pourquoi il est exceptionnel chez *Rana fusca* et assez fréquent chez l'oursin. Quoiqu'il en soit, par sa rareté même, ce mécanisme de réglage est d'un intérêt relativement minime dans l'évolution des œufs di- ou trispermiques. Cela explique aussi que je n'ai pas trouvé dans mon matériel une seule morula ou une seule blastula qui ne contienne une ou plusieurs cellules bi- ou plurinucléées. Plus tard, lorsqu'on n'en trouve pas, la petite taille et le nombre considérable des cellules ne permettent plus d'affirmer qu'une gastrula, par exemple, ne renferme que des cellules mononucléées normales pour la seule raison qu'on n'en voit pas d'autres.

Dans tout ce qui précède, je ne me suis occupé que des œufs dispermiques. Il n'y a aucune raison de recommencer cette étude à propos des œufs trispermiques : ils présentent exactement les mêmes phénomènes de réglage et on y retrouve

tous les types possibles de la division régulatrice en trois. Chez eux aussi les cellules binucléées passent toutes, fatalement, en se divisant, par une forme qui permet un réglage. Cependant la deuxième division chez eux n'est pas régulatrice comme chez les dispermiques, ou du moins ne l'est qu'exceptionnellement. Cela provient de ce que la forme des blastomères ne favorise pas, comme chez ces derniers, l'orientation des deux fuseaux sensiblement suivant un même axe. Cependant, ainsi que le montre la fig. 14, on voit parfois l'un des trois blastomères d'un œuf trispermique se diviser verticalement en trois cellules dont deux ne contiennent plus qu'un seul noyau. Dans les autres cas le réglage se fait progressivement dans la suite de la segmentation, chaque fois que le permet la forme d'une cellule binucléée. L'infinie variété des formes de cette segmentation suffit à faire comprendre que je ne puis pas donner ici une description générale.

Il y a une conclusion à tirer de ces faits.

Dans les phénomènes de réglage aussi bien que dans l'allure générale de la segmentation, l'unité morphologique de l'œuf semble faire complètement défaut. Chaque cellule est binucléée ou mononucléée uniquement pour des raisons de hasard, qui ont donné telle ou telle forme à celle dont elle provient. La tendance si manifeste à un réglage du nombre des noyaux n'est nullement une propriété de l'œuf ; elle n'a d'autres causes que les conditions dans lesquelles chacune des cellules est amenée à se diviser et qui, tôt ou tard, entraînent une division régulatrice. L'unité finale qui est incontestable, n'est que la résultante d'un très grand nombre d'actions particulières à chaque cellule. C'est exactement comparable à " l'unité „ qui finit toujours par être amenée par la segmentation, quelle que soit la manière dont elle se fait.

Ce n'est guère que lors de la gastrulation que l'activité de chaque cellule, ses mouvements, sa prolifération plus ou moins active, seront différentes de celle de ses voisines pour des raisons d'architecture de la totalité de l'œuf ; ce n'est qu'à partir de ce moment qu'un *plan d'ensemble* devient évident dans le déve-

loppement. Jusqu'alors, la seule raison d'être de la segmentation est d'*amener un fractionnement de l'œuf en cellules de plus en plus petites et mononucléées*, et ce résultat peut être obtenu par des voies diverses.

D'une façon générale et si on fait abstraction des types Triaster ou Tetraster dont le point de départ est tout autre, l'évolution des œufs dispermiques d'oursin étudiés par Boveri (07) est très comparable à celle des oeufs dispermiques de *Rana fusca*. On voit, là aussi, des gastrula, des plutei où l'immense majorité des cellules sont mononucléées, malgré la première division de l'oeuf en deux blastomères contenant chacun deux noyaux. Les phénomènes de réglage sont les mêmes; la division en trois, dont la deuxième segmentation est le type, est de beaucoup la plus fréquente. Boveri n'a pas observé directement des cas de réglage immédiat par division en quatre, mais a déduit de l'observation de certaines larves où toutes les cellules étaient mononucléées, que ce mécanisme devait exister chez l'oursin. Les autres particularités de la segmentation des oeufs dispermiques d'oursin (type Doppelspindel) que décrit Boveri sont des cas pathologiques dont nous reparlerons.

Teichmann (03) décrit également, à plusieurs reprises, la division en trois d'une cellule binuclée et le réglage qui s'ensuit. La fig. 8 (*a*, *b*, *c*) pl. X de son travail en est un exemple tout à fait typique.

Par contre, sous le titre de " division sans fuseau ", Teichmann décrit un réglage extrêmement intéressant, mais que, jusqu'ici, je n'ai pas retrouvé. Il s'agit d'une cellule binucléée, dont les deux centrosomes entrent en activité sans se diviser, de façon à constituer chacun ce qu'on appele un " monaster " ; on voit alors la cellule se diviser en deux par un plan qui passe entre ces deux monaster, que ne relient ni fuseau, ni chromatine, ni quoique ce soit qui rappelle une mitose ordinaire. C'est donc un réglage immédiat, aussi efficace et aussi complet que la division en quatre. Ce dernier, Teichmann le considère comme exceptionnel également, lorsqu'il s'agit de

deux fuseaux indépendants, bien entendu, et non pas d'une mitose tétrapolaire.

§ 2. — Arrêts régionaux de la segmentation.

L'étude des parties non segmentées d'un oeuf, quel qu'il soit, comporte deux problèmes bien distincts. Il faut en faire d'abord une étude cytologique, pour rechercher les causes de l'arrêt local de la segmentation, en décrire l'évolution et les principaux caractères. C'est cette étude qui fera l'objet de ce paragraphe.

D'autre part, en soustrayant une partie plus ou moins importante de l'oeuf au développement normal, l'existence de ces parties insegmentées a une grande influence sur la formation du corps même de l'embryon. Mais cette question ne pourra être résolue que quand nous aurons parlé du plan de symétrie et que nous commencerons la description des embryons.

1. — *Mécanisme de l'arrêt de la segmentation.*

On trouve assez fréquemment, dans les oeufs au stade morula, des groupes très caractéristiques, formés d'une cellule mononucléée accolée à une cellule de forme bizarre, présentant comme deux bourgeons et contenant trois noyaux, ainsi que le représente la fig. 23 pl. VIII. Cette cellule trinucléée peut être considérée comme le premier stade d'un arrêt de la segmentation et la fig. 23a, qui représente la division d'une cellule binucléée, rend parfaitement compte de son origine. Les deux mitoses s'orientent d'après la forme de la cellule et, dans le cas présent, se sont placées dans un même plan ou à peu près (la fig. 23a est la reconstitution de 14 coupes), et perpendiculairement l'une sur l'autre. Il suffit d'imaginer les plans de segmentation coupant ces figures pour avoir le résultat que représente la fig. 23 : la mitose de gauche déterminera la formation d'une cellule mononucléée typique, qui s'isole complètement ; celle de droite provoquerait la formation d'un plan de segmentation perpendiculaire au premier, mais qui vient se buter, avant de le rejoindre, à l'une des sphères attractives de la première et

ne va pas plus loin, de sorte qu'une cellule bilobée et contenant trois noyaux prend ainsi naissance.

Cet *arrêt d'un plan de segmentation par l'aster d'une mitose voisine* est un fait très fréquent, qui semble même une loi générale de mécanique cellulaire. Boveri (07) et Teichmann (03) l'ont décrit en détail à propos de la segmentation des oeufs dispermiques d'oursin.

Lorsqu'un plan de segmentation est ainsi arrêté avant d'avoir isolé complètement une cellule de ses voisines, on le voit progressivement disparaître ; la cellule, désormais trinucléée, s'arrondit en même temps que se reconstituent les noyaux qu'elle contient.

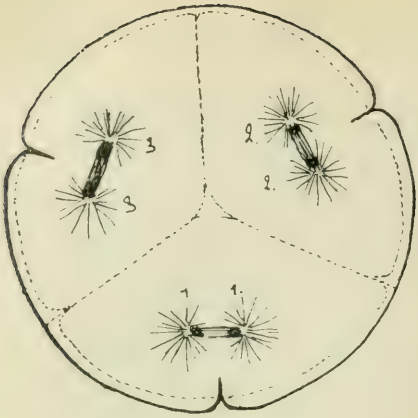
Mais il n'en est pas moins vrai que chacune des deux mitoses, dans cette cellule, a déterminé la formation d'un plan de segmentation. Or il n'en est pas toujours ainsi, et la fig. 21 nous en montre un exemple ; il s'agit d'un oeuf trispermique divisé en trois blastomères, dont un seulement est représenté ici, avec sa forme triangulaire caractéristique. Cet oeuf est âgé de 8 heures, ce qui ne correspond nullement à l'état de sa division. Que s'est-il passé ? La simple observation des coupes répond à cette question : lors de la deuxième division, chacun des deux noyaux que contenait ce blastomère a subi la caryocinèse, mais aucun cloisonnement cellulaire n'y a fait suite ; le nombre des noyaux est passé de deux à quatre, et nous voyons maintenant quatre mitoses bien distinctes, qui représentent par conséquent le début de la troisième division ; si on examine la répartition de ces mitoses, on sera frappé de voir qu'il y en a deux qui sont beaucoup plus éloignées que les autres de la surface du blastomère ; mais il y a plus : alors qu'un plan de segmentation bien net s'apprête à couper perpendiculairement l'axe de ces dernières, celles qui sont ainsi situées dans la profondeur du protoplasme ne déterminent pas la moindre trace d'un début de segmentation, bien qu'elles soient exactement pareilles aux autres.

Nous nous trouvons ici en présence d'un fait général, d'une véritable loi, que Teichmann (03) a eu le mérite d'établir, et qui

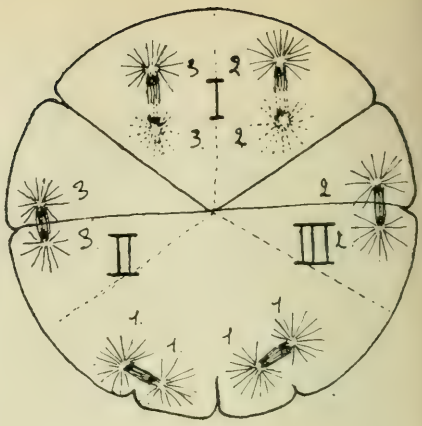
s'énonce comme ceci : " *la profondeur d'un sillon de division est proportionnelle à l'écartement des sphères attractives.* » En d'autres termes, plus l'écart est moindre entre ses deux sphères attractives, plus la mitose doit être rapprochée d'un point d'appui pour la formation d'une membrane, afin d'amener une segmentation complète. Dans la fig. 21, c'est précisément ce qui manque aux deux mitoses profondes : elles sont trop petites, ou trop loin de la surface. Quant aux causes et de ces dimensions restreintes et de cette répartition, on ne peut qu'émettre des hypothèses. Mais le fait important c'est que l'arrêt de la segmentation peut être directement causé par une disproportion entre l'écartement des sphères attractives et la profondeur du sillon qui devrait se former.

La figure 78 pl. X, représente également un oeuf trispermique chez qui la deuxième division s'est bornée aux noyaux, qui préparent ici une nouvelle série de mitoses. Cet œuf, qui est âgé de 10 heures 1/2, est particulièrement intéressant parce qu'il montre toute une réunion de dispositions vicieuses des mitoses et, à part quelques unes, on peut être certain qu'elles ne donneront pas non plus naissance à des plans de segmentation complets et durables ; il est inutile de décrire en détail cette figure qui est assez explicite par elle même. Il va de soi que toutes ces mitoses ne sont pas réunies, comme ici, sur un seul plan ; mais leur orientation a été soigneusement repérée sur les 38 coupes dont on a la reconstitution dans cette figure.

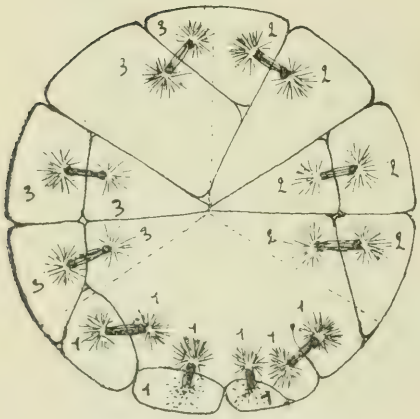
Le schéma VI p. 210 nous montre encore une autre origine d'une cellule multinucléée. C'est une morula trispermique de 6 heures, pour laquelle on a pu reconstituer les premières divisions. La fig. *A* représente la première division, avec l'orientation caractéristique des figures ; les traits interrompus indiquent les limites des énergides, les échancrures de l'écorce le début des plans de segmentation. Les trois spermatozoïdes ont été numérotés, afin de pouvoir retrouver, dans la suite du développement, les noyaux qui proviennent de chacun d'eux (voir chap. IV).



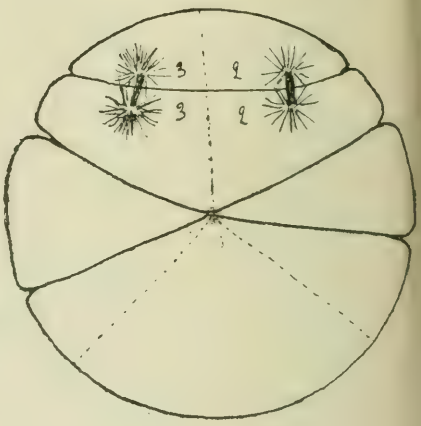
A



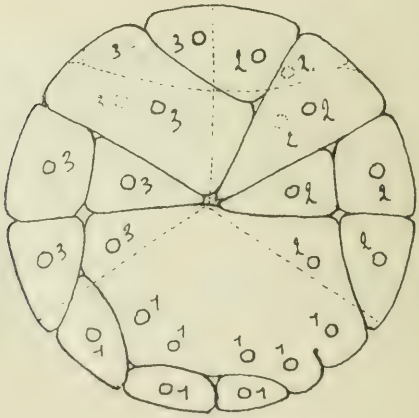
B



C1



C2



D. Schéma VI.

La fig. *B* représente le début de la deuxième division. On remarque que deux des blastomères (II et III) ne sont pas complètement séparés, l'un des trois premiers plans de segmentation s'étant arrêté avant de rejoindre les deux autres ; le blastomère I est au contraire bien isolé.

Le blastomère I se divise par un plan horizontal et donnera naissance à deux cellules, binucléées comme lui, et superposées.

Les blastomères II et III se préparent, au contraire, à une division en trois, division régulatrice typique.

La figure C 1 montre le stade suivant, qui est donc le début de la troisième division. La fig. C 2 représente le même stade, mais à un niveau inférieur de l'oeuf, pour permettre l'étude de l'une des deux cellules provenant du blastomère I. Revenons à la figure C 1. Dans la première cellule du blastomère I se prépare une division régulatrice, avec très forte obliquité des figures. Dans l'ensemble formé par les blastomères II et III, écartons d'abord deux cellules mononucléées complètement isolées à la suite de la dernière division régulatrice. Il nous reste six figures de division. En traçant des plans de segmentation les coupant perpendiculairement, on arrive au résultat assez bizarre que représente la figure D, faite d'après les coupes. Ces six figures de division ont amené la formation, vers la périphérie de l'oeuf, de 5 petites cellules mononucléées tandis que vers l'intérieur de l'oeuf se voit maintenant une grosse cellule contenant *sept* noyaux.

Cet œuf montre deux choses intéressantes : d'abord, un nouveau mécanisme de réglage, de production de cellules mononucléées par un véritable " découpage „ se produisant à la périphérie d'un polycaryocyte. J'y reviendrai plus loin. Mais l'origine même de cette cellule à sept noyaux est à retenir. L'arrêt du sillon de la première division, qui aurait dû séparer les blastomères II et III y est certainement pour quelque chose, mais, même en le supposant achevé, on aurait encore deux grosses cellules à trois et quatre noyaux. Au contraire, et l'examen de la figure C 1 le montrera mieux qu'une description,

l'orientation des fuseaux devait forcément aboutir à ce résultat; cette orientation n'a rien d'anormal, les fuseaux non plus et c'est le hasard seul de cette disposition des figures de division qui est la cause de l'apparition d'un polycaryocyte.

Je reviens encore ici [1] sur le fait que cette cellule contient des représentants de chacun des trois noyaux de l'oeuf fécondé (1 amphicaryon et 2 monocaryons), parce que c'est une démonstration de ce fait que la nature des noyaux n'a rien à voir avec la formation de cellules multinucléées, mais seulement la disposition de leurs figures de division.

C'est là un fait sur lequel j'insiste : *les arrêts de la segmentation dans des territoires plus ou moins étendus des œufs di- ou trispermiques de Rana fusca sont de simples accidents* : ce n'est pas parce qu'il contient deux noyaux spermatiques, ou un monocaryon et un amphicaryon, qu'un blastomère quelconque cesse de se segmenter à un certain moment ; c'est uniquement parce que la présence simultanée de deux mitoses dans une même cellule peut, par hasard, troubler sa segmentation ; il ne faut y voir autre chose que des lois banales de dynamique cellulaire.

Il n'est même pas nécessaire, d'ailleurs, qu'il y ait deux mitoses dans une cellule pour qu'elle arrive plus ou moins difficilement à se segmenter : la présence de deux noyaux complètement au repos suffit.

La figure 79, pl. X, nous en montre un exemple intéressant. Il s'agit non plus d'un blastomère ou d'une grosse cellule, mais d'une très petite cellule de la voûte d'une blastula dispermique de 24 heures, où on voit nettement deux noyaux intimement accolés l'un à l'autre et entourés de 4 centrosomes bien distincts ; nous reviendrons plus loin sur ces copulations de noyaux et sur leurs divisions ; je dirai cependant, dès maintenant, que les mitoses polycentriques qui se forment ainsi à la suite de la réunion de plusieurs noyaux ne sont pas, chez *Rana fusca,* suivies de division cellulaire : cette petite cellule

[1] V. chapitre IV.

binucléée est arrivée au terme de son existence ; c'était le dernier ou l'un des derniers résidus des processus de réglage qui, nous l'avons vu, laissent toujours quelque part une ou plusieurs cellules binucléées : ces cellules continuent encore pendant longtemps à se diviser en donnant naissance à des cellules ne contenant plus qu'un noyau ; elles deviennent donc de plus en plus petites et un moment arrive où leurs deux noyaux sont tellement rapprochés qu'ils copulent, en vertu d'une tendance sur laquelle nous aurons à revenir. A partir de ce stade, cette cellule cesse de se diviser et subit ensuite toute une série d'altérationsnous que allons examiner et qui amènent sa nécrose ; mais on voit combien peu importante pour l'oeuf sera la perte de cette minuscule masse de protoplasme qui contenait encore deux noyaux.

En réalité donc, ce processus devrait plutôt être décrit avec les phénomènes de réglage, dont il constitue la dernière manifestation. Si je l'ai réservé jusqu'à ce moment, c'est parce qu'i représente un cas très typique d'arrêt de la segmentation et que nous allons en retrouver de nombreux exemples dans ce qui suit.

2) *Évolution des zones de l'œuf où la segmentation s'est arrêtée.*

Cette évolution comporte toute une série de stades caractérisés par différentes anomalies qui, progressivement, aboutissent à une nécrose. Nous commencerons donc par examiner une zone quelconque de l'oeuf où vient d'échouer le processus de segmentation.

Pendant toute une période, on voit simplement les mitoses se succéder presque sans arrêt, de sorte qu'au bout de peu de temps la partie non segmentée se montre encombrée d'un grand nombre de figures de divisions. C'est ce que montre la fig. 17 pl. VIII qui représente la coupe d'une jeune morula dispermique, âgée de 10 heures $^1/_2$; une moitié à peine est segmentée ; l'autre renferme de nombreuses mitoses (j'en ai compté une trentaine). La coupe est sagittale, donc perpendiculaire au

plan équatorial. J'insiste sur deux points, parce qu'ils sont caractéristiques de ce premier stade de l'évolution des parties insegmentées : les mitoses sont très nettement indépendantes les unes des autres et localisées à la partie supérieure de l'oeuf : l'hémisphère inférieur n'en contenait aucune. D'autre part on voit très nettement la partie segmentée de l'oeuf s'étendre à la *surface* de la partie indivise et former ainsi comme les deux pointes d'un croissant, tandis que partout où ces deux parties sont en contact, à l'exception de l'hémisphère inférieur, on voit des plans de division plus ou moins nets, plus ou moins profonds, entamer la masse de protoplasme insegmenté, qui n'est donc pas séparée de la couche cellulaire par une limite bien nette : on passe progressivement de l'une à l'autre.

La répartition des mitoses dans l'hémisphère supérieur de l'oeuf s'explique facilement puisque ce n'est que dans cette région qu'on trouve, à ces jeunes stades, les noyaux issus des divisions des premiers noyaux de l'oeuf fécondé, et cela à cause de la disposition des matériaux proto- et deutoplasmiques. Mais par le fait même que les mitoses sont encore dans une zone riche en protoplasme et qu'elles sont indépendantes, elles ont encore le pouvoir d'amener une segmentation au même titre que n'importe quelle autre caryocinèse ; il va de soi cependant que si, comme nous l'avons vu, la présence de deux mitoses seulement dans une cellule expose celle-ci à un arrêt de la segmentation, lorsqu'il y en a une trentaine, comme c'est le cas ici, les chances " d'accidents „ sont beaucoup plus nombreuses. Aussi n'y a-t-il absolument que les mitoses périphériques qui puissent donner lieu à un plan de segmentation, elles seules sont assez rapprochées de la surface pour qu'il y ait proportion entre la profondeur du sillon et l'écartement de leurs sphères attractives (loi de Teichmann). Toute une série de petites cellules mononucléées peuvent ainsi prendre naissance ; elles s'isoleront plus ou moins complètement suivant que la membrane aura ou n'aura pas un point d'appui suffisant dans les cloisons déjà existantes. La nécessité d'un tel point d'appui ne peut être mieux démontrée que par cette progression en " pointes de

croissant „ de la partie segmentée à la surface de la masse syncytiale.

Ce premier stade de l'évolution des polycaryocytes est donc bien caractéristique : la masse ne présente encore aucun caractère pathologique, les mitoses se succèdent sans se confondre ; le pouvoir de segmentation n'est nullement aboli, mais ne peut se manifester que lorsque le permettent les hasards de la disposition du fuseau ; chaque fois que celle-ci s'y prête, une petite cellule se forme, s'isole plus ou moins complètement ; la masse de la partie insegmentée tend à se réduire par un véritable mécanisme de réglage, qui augmente notablement le nombre des cellules mononucléées.

Lorsqu'on a affaire à un arrêt de segmentation qui ne s'est produit que dans une cellule déjà assez petite, chez une morula par exemple, ce processus suffit souvent à réduire la masse insegmentée à presque rien. S'il s'agit au contraire d'une masse égale à un blastomère entier ou plus, il est évident que la proportion des cellules mononucléées auxquelles elle peut donner naissance est relativement peu importante. Mais l'essentiel est évidemment de constater que, pendant une première période de leur évolution, des parties insegmentées, quelles qu'elles soient, n'ont rien perdu de leur vitalité : elles ne représentent pas une zone " malade „ de l'oeuf, mais simplement *une zone où les chances de segmentation diminuent de plus en plus* à mesure que les mitoses se succèdent.

Mais les choses n'en restent pas là et la fig. 18 pl. VIII, coupe d'une morula trispermique de 19 heures (presqu'une blastula), nous montre un stade plus avancé de l'évolution des parties non segmentées. Cette figure est particulièrement intéressante parce que la partie segmentée a exactement le même aspect que dans la fig. 17, dont je viens de parler ; les cellules sont plus petites, ce qui est en rapport avec le stade plus avancé de la segmentation, mais leur disposition en "croissant„ est tout aussi caractéristique. Nous sommes bien en présence du stade suivant immédiatement celui où nous avons pu voir la formation de ce croissant et sa signification et

la comparaison des deux figures (17 et 18) est très intéressante.

On remarque tout d'abord que le nombre des mitoses est devenu énorme dans la masse insegmentée ; il y en a certainement plus de 100. On notera aussi que leur répartition n'est plus la même : elles s'étendent maintenant jusque tout près du pôle inférieur de l'oeuf et se disséminent au milieu des grosses plaquettes vitellines ; mais, cela se comprend, c'est toujours dans l'hémisphère supérieur qu'il y en a le plus.

La différence avec la figure 17 s'accentue encore si on examine ces mitoses à un fort grossissement ; un grand nombre encore sont normales, bien isolées les unes des autres, mais à côté d'elles se voient maintenant toute une série de figures polycentriques, dont la disposition varie à l'infini. Les fig. 88 et 94 pl. XII et 80 pl. X en représentent quelques unes : ce sont tantôt de véritables chaînes de 5, 6 mitoses parfois, ou bien des amas en triangle, en carré, en pyramide, etc.

Quelle est l'origine de ces mitoses polycentriques ? Ces formations ont été décrites déjà très souvent. O. et R. Hertwig (87), Henneguy (91), Normann (96), Driesch (92), Wilson (01), Boveri (07), Lillie (05), Scott (05), Kostanecki (08 a et b), Doflein (1900), Godlewski (08) et bien d'autres encore ont décrit les figures polycentriques qui peuvent se présenter au cours du développement, soit normal, soit anormal. Elles sont constantes, par exemple, dans les expériences de polyspermie d'O. et R. Hertwig, de Boveri, de Teichmann (03), sauf l'exception déjà signalée du "Doppelspindeltypus„. Dans ses observations sur les oeufs de grenouille polyspermiques, Brachet (1910 b) les signale aussi.

Il ressort de tous ces travaux [1] que les figures polycentriques sont de deux ordres : celles qui se forment lorsque deux ou plusieurs mitoses primitivement indépendantes sont trop

[1] Il est entendu qu'il n'est pas question ici des nombreuses anomalies de la mitose qu'on observe dans certaines altérations pathologiques et notamment dans les cellules cancéreuses.

rapprochées l'une de l'autre et produisent, par leurs astrosphères, des perturbations plus ou moins intenses du processus habituel de la caryocinèse ; HENNEGUY (91) a donné des figures devenues classiques de ces phénomènes, observés par lui dans le blastoderme de la Truite. D'autre part, des figures polycentriques peuvent prendre naissance lorsque deux ou plusieurs noyaux, pourvus chacun d'un centrosome, se rapprochent et copulent en se fusionnant plus ou moins complètement ; il se forme ainsi un *polycaryon*. Lorsque ce noyau complexe se divise, il y a autant de fois, en général, deux sphères attractives, qu'il y a de noyaux copulants et il en résulte une figure mitosique tétra, hexapolaire etc. La division des oeufs polyspermiques d'oursin, telle que la décrivent O. et R. HERTWIG (87), celle des œufs dispermiques type Tetraster de BOVERI sont des types parfaits de cette deuxième espèce de figures polycentriques.

Je crois que, pareillemement, deux mécanismes peuvent rendre compte d'une grande partie des nombreuses figures polycentriques qui donnent aux parties insegmentées que nous étudions un aspect très caractéristique. En effet, j'ai dit plus haut que ces mitoses particulières n'apparaissent pas de suite : un certain temps s'écoule entre la formation d'une cellule plurinucléée et le moment où on commence à les y apercevoir. Or, pendant toute cette période, les divisions nucléaires se succèdent ; il se produit un véritable encombrement de mitoses et un moment vient où elles sont assez serrées l'une contre l'autre pour s'influencer. Je crois, par exemple, que la fig. 88 pl. XII peut s'interpréter exactement comme celles publiées par HENNEGUY ; tout permet de croire que ces deux mitoses étaient indépendantes, puis que l'une d'elles à été "déviée„ par l'une des sphères attractives de l'autre. BRACHET, qui décrit des formes identiques, les rattache aussi à une perturbation survenue entre deux mitoses très voisines.

La fig. 94 pl. XII paraît être, au contraire, une division polycentrique typique. Ce qui me porte à le croire, c'est qu'à peu de distance de l'endroit de l'œuf où elle se trouve, on

voit, vers l'hémisphère inférieur, des noyaux volumineux qui, sans aucun doute,sont des polycaryons. On voit très bien que la surface de ces polycaryons est littéralement hérissée de petits centrosomes qui entrent en activité, pl. X, fig. 56 et 57 ; il est fort probable qu'il se prépare là une mitose pluripolaire et que la fig. 94 n'est qu'un stade plus avancé d'un processus analogue. Je ferai remarquer, en passant, qu'à partir de ces stades, le synchronisme entre les divisions est loin d'être aussi absolu qu'au début ; dans un même œuf, la règle est maintenant de retrouver tous les stades de la caryocinèse. Cependant, fait intéressant, les mitoses d'un même niveau, par rapport à l'équateur de l'oeuf, sont très sensiblement au même point ; peut être faut-il voir là une simple application de la loi de Balfour, sur les variations de la vitesse des divisions suivant la quantité de deutoplasme de la région où elles se font.

Je reviendrai plus loin sur l'origine et l'évolution des polycaryons, qui sont beaucoup plus fréquents dans les stades plus âgés.

Il y a encore, dans la figure 88, d'autres mitoses polycentriques, et ce sont les plus nombreuses : les mitoses en chaînes ; elles sont vraiment caractéristiques d'une certaine période de l'évolution des parties insegmentées et on les trouve dans tous les œufs qui en présentent d'un peu considérables. Plus tard, ce sont les mitoses en amas, en pyramides, les polycentries typiques, qui prédominent et qu'on peut toujours rattacher à la division de polycaryons.

J'insiste sur leur aspect très particulier : ce sont bien des mitoses, avec fuseau et paquets de chromosomes ; elles semblent attachées l'une à l'autre et forment de longues séries. Ce ne sont pas des mitoses troublées par un voisinage trop immédiat, comme on en voit un exemple dans cette même figure 88.

Je pense qu'il est difficile d'admettre que la division polycentrique d'un polycaryon puisse avoir cet aspect là. Malgré un examen des plus attentifs et avec les objectifs les plus puissants, je ne saurais préciser davantage leur mode de réunion : c'est toujours une sphère attractive, un fuseau, une

sphère, un fuseau et ainsi de suite ; mais y a-t-il deux centrosomes et deux centrioles [1] entre deux fuseaux réunis, ou n'ont-ils qu'un centrosome commun et, dans ce cas, y a-t-il un ou deux centrioles ? Je l'ignore.

J'ai aussi essayé de trouver le stade intermédiaire entre le moment où deux figures mitosiques sont encore indépendantes et celui où elles se mettent bout à bout ; la figure 53 montre le seul renseignement que j'ai pu recueillir : on voit ici deux mitoses à la suite l'une de l'autre, mais pourvues encore chacune de deux sphères attractives (centrosomes + radiations, suivant la nomenclature proposée par Boveri (1900)) bien indépendantes ; cependant, entre les deux pôles voisins des figures contiguës, je ne trouve pas cette ligne claire si caractéristique, qui indique l'existence d'une zône neutre. Mais ces deux mitoses se seraient-elles complètement unies, ou seraient-elles restées à ce stade, je n'en sais rien.

Relativement à l'origine de ces curieuses chaînes de mitoses, je ne puis émettre qu'une hypothèse, que je base sur un fait extrêmement fréquent dans les divisions des polycaryons et que Boveri (07) décrit en détail à propos de certains oeufs dispermiques : un centrosome rentrant en activité, après la courte période de repos qui suit une mitose, mais sans se diviser (cf. les types " Triaster „ et " Doppelmonaster „ de Boveri), de sorte que l'autre pôle de la nouvelle mitose peut se rattacher à l'une de celles qui l'entourent. Mais il faudrait voir si, entre les chaînons, existent oui ou non deux centrosomes distincts, ou si la figure 53 n'a, en réalité, rien à voir avec une mitose en chaîne typique.

Quoiqu'il en soit, ces mitoses constituent la caractéristique d'une période de l'évolution des oeufs di- et trispermiques partiellement segmentés ; avant leur apparition on voit des mitoses normales et isolées ; après on voit surtout des polycaryons. Il est assez logique de penser qu'elles représentent le moment

---

[1] Toute la nomenclature de ce qui se rapporte aux centrosomes est conforme à celle proposée par Boveri (1900).

où l'encombrement de la partie insegmentée ne permet plus l'édification de mitoses normales, mais n'entraîne pas encore les noyaux eux-mêmes à copuler. L'existence simultanée des mitoses " déviées „ (fig. 88) et des mitoses en chaîne est un argument en faveur de cette manière de voir.

Il faut insister maintenant sur un point très important : qu'il s'agisse de mitoses déviées, de polycentries typiques, en amas, ou de mitoses en chaînes, aucune de ces formes anormales de la division du noyau n'entraîne la moindre segmentation du protoplasme, quelle que soit leur situation. La fig. 80 met bien en évidence la différence qui existe, à ce propos, entre les dernières mitoses encore normales et les polycentries : on voit très nettement que deux cellules mononucléées sont sur le point de se former par l'action de deux figures de division normales et indépendantes ; au contraire, et bien qu'elle soit vraiment couchée le long de la surface de l'œuf, malgré les points d'appui qu'elle y trouverait, aucune des cinq mitoses de la chaîne que l'on voit ici à droite n'a amené la moindre trace de segmentation. C'est un fait général dans les œufs de *Rana fusca* que les mitoses polycentriques, quelles qu'elles soient, sont impuissantes à déterminer la moindre segmentation ; Brachet (1910) signale également ce fait, de même que O. Hertwig (98 et 99), Endres (96), Roux (88) etc. Il est évident, par conséquent, que le moment où la partie insegmentée ne présente pour ainsi dire plus que des mitoses complexes, l'oriente désormais dans une voie sans issue, ou plus aucun réglage ne pourra intervenir, où les mitoses et les noyaux vont se gêner de plus en plus ; en un mot, l'*apparition de ces mitoses en chaîne marque le début d'une évolution entièrement pathologique*, dont la fin inévitable est la nécrose de la partie non segmentée. Ce sont les différentes phases de cette dégénérescence que nous allons maintenant parcourir.

Un premier point à élucider, c'est le sort des mitoses polycentriques soit " déviées „ (forme d'Henneguy), soit en chaînes. Relativement aux premières, je ne puis qu'émettre une supposition, car mon matériel ne m'a fourni aucun renseignement ; il

est probable qu'elles aboutissent à la formation de deux, trois ou quatre noyaux, selon l'intensité de la perturbation produite, et que ces noyaux sont de volumes variables; ces mitoses déviées sont d'ailleurs presque des exceptions et leur importance est moindre que celle des autres formes.

La figure 54 montre au contraire avec la plus grande netteté les deux modes principaux de terminaison des polycentries en chaîne. Leur étude est rendue plus facile parce que, pendant que s'édifiaient les fuseaux, une formation de pigment se produisait au sein du protoplasme et celui-ci garde longtemps une image exacte de la disposition des figures de division. Or, dans le voisinage immédiat de ces traces pigmentées, se voient tantôt des noyaux d'apparence normale, tantôt et le plus fréquemment, des polycaryons typiques. La fig. 54 montre un état intermédiaire : tout près des traces de pigment, on voit des petits noyaux accolés et un autre qui, probablement, était sur le point de les rejoindre. La formation de noyaux isolés à la suite des figures polycentriques est transitoire et ne dure que pour autant qu'ils puissent rester assez éloignés l'un de l'autre.

Dans les stades qui suivent immédiatement le plein essor des mitoses en chaîne, on voit, en grande abondance, des figures polycentriques typiques et on y retrouve avec la plus grande facilité tous les stades de la division d'un polycaryon. Les fig. 80 et 94 montrent ce processus. Il s'agit simplement de la division des noyaux complexes formés au cours du stade précédent et suivant le mécanisme que nous venons de voir.

Je ne reviens plus sur la copulation de ces noyaux, mais l'étude détaillée de l'évolution des polycaryons est très intéressante. Nous venons de voir qu'ils peuvent se diviser par mitose polycentrique. Cependant, si on examine la fig. 49 qui représente une coupe d'ensemble d'une blastula trispermique de 28 heures, on remarque que toute division nucléaire semble arrêtée et les gros noyaux sont partout au repos complet. Qu'est-ce que cela signifie ?

Si on examine la préparation à un fort grossissement, il y a un premier point qui saute aux yeux (fig. 42) ; nous venons de

voir que les polycaryons qui se divisaient étaient formés de 3, 4, 5 noyaux au plus; or, ici, ce sont des accumulations de 10 ou 15 noyaux et plus, agglomérés en une petite masse rappelant tout à fait la forme d'une mûre.

C'est un premier fait à mettre en évidence : les polycaryons deviennent de plus en plus volumineux au fur et à mesure qu'on examine des stades de plus en plus avancés. Cela n'a rien qui doive nous étonner, puisque la succession des mitoses augmente constamment le nombre des noyaux.

Mais ce qui est le plus important, c'est que cette augmentation de volume entraîne la perte de leur pouvoir de se diviser, même par les mitoses les plus compliquées, et il y a là tout un processus extrêmement curieux. Pour le décrire, je suivrai simplement les figures où j'ai représenté les stades principaux.

La figure 57 représente un ensemble formé de 7 noyaux accolés, provenant d'une petite plage insegmentée chez une blastula de 18 heures. On voit que des centrosomes parfaitement nets [1] et entourés d'irradiations accompagnent la masse nucléaire; mais l'aspect de ces centrosomes doit retenir notre attention : les uns paraissent étroitement unis chacun à un noyau; leurs irradiations ne s'étendent que d'un côté; en un mot, ils rappellent exactement ce qui se passe *au début* d'une caryocinèse quelconque, lorsque le centrosome se prépare à se diviser. Les autres, au contraire, sont à quelque distance des noyaux et forment dans le protoplasme de la cellule chacun un aster typique, symétrique; ils semblent s'être " détachés „ du polycaryon.

Dans la fig. 42, pl. X, nous avons un gros polycaryon qu'une véritable auréole semble entourer; ce sont les irradiations des centrosomes, qu'on voit de-ci de-là dans l'interstice des noyaux, qui lui donnent cet ornement; mais, à quelque

---

[1] Il va de soi que presque toutes ces figures sont des reconstitutions de plusieurs coupes. Lorsque les centrosomes accompagnent ainsi les polycaryons, on les voit avec la plus grande facilité, sous forme d'un petit corps sphérique et tres réfringent.

distance dans le protoplasme de la masse syncytiale, se voit une véritable constellation de centres; les uns sont isolés, les autres *réunis entr'eux par un fuseau achromatique d'une netteté absolue, mais sans trace de chromatine* (v. la fig. 81, pl. X); il y en a même qui forment de véritables mitoses polycentriques, mais toujours sans aucun filament chromatique.

La fig. 57 peut être considérée comme nous donnant la clef du problème; on voit, d'un côté, un centrosome étroitement appliqué contre l'un des noyaux et relié d'autre part par un fuseau sans chromatine à un autre centrosome, second pôle de cette singulière mitose. Il s'agit évidemment de la division de l'un des centrosomes amenés par chacun des noyaux au polycaryon et tandis que l'une des moitiés reste en place, l'autre s'écarte dans le protoplasme, où de nombreuses irradiations existent déjà; *c'est une mitose normale, mais le noyau n'y répond pas.*

L'interprétation de cette curieuse évolution des sphères attractives est maintenant bien facile et se rattache à ce que nous avons vu tout à l'heure. Lorsque les mitoses, en se succédant, amènent un certain encombrement dans la partie de l'oeuf qui a cessé de se segmenter, on les voit d'abord se gêner ou s'unir en chaînes plus ou moins longues : c'est le premier stade de l'évolution pathologique de toute zone insegmentée. *A l'encombrement des mitoses* succède un encombrement de noyaux, qui finissent par être tellement rapprochés les uns des autres qu'ils copulent en formant de petits polycaryons de 2 à 5 ou 6 composants; ces noyaux composés se divisent par *mitoses polycentriques typiques* : deuxième stade. Le résultat de ces divisions ne fait que favoriser la formation de nouveaux polycaryons qui deviennent de plus en plus nombreux et de plus en plus gros ; à partir d'un certain volume, il leur devient impossible de se diviser : les nombreux centrosomes qui les entourent se gênent les uns les autres et sont impuissants à vaincre l'inertie de cette masse volumineuse qu'ils se bornent à entourer d'une auréole : c'est un troisième stade, caractérisé par la *cessation de toute division nucléaire.* Mais ces centrosomes

continuent à évoluer pour leur propre compte ; les uns quittent purement et simplement le noyau qui leur correspond (fig. 42) ; les autres se divisent, l'une des moitiés restant en place, l'autre émigrant dans le protoplasme (fig. 57), où elle continue à parcourir les étapes du cycle habituel, en se divisant et en formant les figures achromatiques les plus variées ; cette *dissémination des centrosomes* est caractéristique d'un quatrième stade, pendant lequel les parties insegmentées de l'œuf sont constellées d'une multitude d'irradiations qui envahissent tout le protoplasme, tandis que de place en place se voient de volumineux polycaryons complètement au repos (fig. 42, pl. X).

Ce stade précède immédiatement la *période finale de dégénérescence*. Celle-ci débute au centre des amas de noyaux, qui devient transparent, légèrement granuleux ; on n'y distingue plus qu'une masse légèrement pigmentée, où toute trace des noyaux disparaît ; les noyaux périphériques résistent plus longtemps et entourent cette masse nécrosée d'un anneau très caractéristique (fig. 43.) En même temps, dans le protoplasme on voit graduellement s'estomper les irradiations des centrosomes. Puis les noyaux restés sains entrent à leur tour en caryolyse ; le fait le plus saillant est à ce moment l'enkystement de chaque polycaryon en dégénérescence dans une petite logette de protoplasme (fig. 43 et 89, pl. X et XII), et la diminution considérable du volume de la masse nucléaire. Celle-ci tombe alors au fond de la petite loge qui la contient et finit par disparaître : c'est l'une des origines des nombreuses vacuoles qu'on voit apparaître dans la masse syncytiale et ce sont les plus petites qui se forment ainsi. Je tiens à insister sur ce fait que ce processus n'est pas du tout un effet des agents fixateurs sur l'oeuf ; les pièces mal fixées ont un tout autre aspect, que Gurwitsch (09) a bien décrit ; ici, au contraire, on voit tous ces stades réunis dans un même œuf et tous également nets.

Quant aux grandes vacuoles qui donnent parfois à la masse en voie de nécrose l'aspect d'une éponge, je crois qu'il y a lieu de distinguer celles qui s'ouvrent à l'extérieur et celles qui s'ouvrent en dessous des zones segmentées de l'œuf et à un endroit bien déterminé et toujours le même.

Les premières me paraissent simplement le résultat des végétations microbiennes et des filaments mycéliens qui, très tôt, envahissent les tissus à vitalité diminuée et dont ces vacuoles sont parfois bourrées. Il est très possible que ces organismes pénètrent dans les petites cavités laissées par la nécrose des polycaryons et les agrandissent ensuite.

Les secondes sont infiniment plus intéressantes. Avant de discuter leur origine et leur signification, je les décrirai rapidement dans ce qu'elles ont de plus caractéristique. On remarque d'abord que leur situation n'est pas quelconque : c'est toujours une sorte de creusement, qui se produit dans l'hémisphère supérieur de l'œuf; la masse syncytiale forme le plancher de cette cavité soit en tout (fig. 50), soit en partie (fig. 49). Tout, jusqu'à l'âge de l'œuf auquel ces vacuoles apparaissent, donne l'impression d'une véritable *cavité de segmentation*. Brachet (1910a) le premier, a décrit cette formation dans les œufs polyspermiques de grenouille et a fait observer que lorsque des blastulas typiques ont ainsi une partie du plancher de leur cavité de segmentation formée par la masse syncytiale, il devient difficile de s'expliquer que cette cavité ne se soit pas, au moins en partie, formée par liquéfaction d'une certaine portion de cette masse, car ici, il ne peut être question de déplacements des cellules. Brachet a rapproché ses observations de celles de Godlewski (08), qui a assisté à toutes les phases de la " colliquation „ d'une masse syncytiale, dans les œufs d'oursin soumis à l'influence de l'anhydride carbonique, et à l'apparition, par ce processus, d'une cavité de segmentation absolument typique, permettant à la blastula de prendre son aspect caractéristique et de poursuivre plus ou moins loin son évolution.

J'ai cherché à trouver des traces de liquéfaction dans la masse insegmentée entourant partiellement des cavités de segmentation et j'ai constaté que cette masse présente là, en effet, des caractères qu'elle ne possède pas à la limite des autres vacuoles. La figure 44a, montre l'aspect du bord d'une vacuole formée par rétraction et fonte d'un

polycaryon ; ce bord est net et comme découpé à l'emporte-pièce. La fig. 89, pl. XII, représente, chez la même blastula trispermique de 19 heures, le bord de ce qui tient lieu de cavité de segmentation ; il n'y a pas de limite précise, mais une zône indécise, plus claire, avec des granulations pigmentaires et des grains vitellins, creusée d'une infinité de petites lagunes qui se rejoignent vers la périphérie ; l'aspect des plaquettes vitellines, surtout, est à noter : en allant du centre de la masse vers la cavité, on les voit d'abord avec leur aspect normal, puis plus pâles, puis considérablement gonflées [1], enfin déformées, anguleuses, ratatinées, etc. Par-ci par-là on voit tomber dans la cavité les débris plus ou moins nécrosés d'un polycaryon.

Tous ces symptômes sont, exactement, ceux décrits chez l'oursin par Godlewski (08). Le rapprochement fait par Brachet se justifie complètement par l'examen détaillé de ces altérations, qui semblent indiquer *une véritable fonte de la masse insegmentée et la formation ou l'achèvement d'une cavité de segmentation à ses dépens.*

Godlewski a justement attiré l'attention sur ce processus qui permet finalement à des oeufs très anormaux de former une blastula qui peut être considérée comme normale dans ce qu'elle a de plus essentiel. Il s'agit là d'un phénomène de réglage très particulier, dont Driesch (01) avait déjà observé des exemples et qu'il a appelé "Regulation durch Destruktion„.

C'est bien en effet un véritable phénomène de réglage qui se produit ici ; dans cette persistance de la cavité de segmentation à se former dans une région bien déterminée de l'œuf, par creusement dans une masse indivise, creusement qui s'arrête lorsque la cavité a atteint à peu près ses limites normales, il est difficile de voir une formation accidentelle, comme celle des autres vacuoles.

---

[1] Jenkinson (06) a observé les mêmes phénomènes dans les œufs de grenouille soumis à l'action de certains agents chimiques. Ici, il faut s'en souvenir, les œufs ne sont nullement altérés.

Mais s'il en est réellement ainsi, la compréhension qu'on se fait habituellement de la cavité de segmentation doit être modifiée, car tout semble indiquer qu'elle se forme par une activité particulière de l'œuf se manifestant dans une région bien déterminée, tantôt par écartement des cellules, tantôt, lorsque l'œuf est " paralysé „ par une grosse masse vitelline indivise, par le sacrifice d'une partie de celle-ci, qui se creuse d'une cavité sensiblement de même grandeur que quand tout est normal.

L'hypothèse que la formation de la cavité de segmentation relève d'une activité spéciale de l'oeuf a déjà été émise d'ailleurs par deux auteurs : Morgan (06) et Ruffini (07), mais nous ne pouvons évidemment entrer ici dans la discussion de cette question.

* * *

La suite de l'évolution des parties insegmentéees ne les concerne plus elles-mêmes, mais se rapporte plutôt à l'influence qu'elles exercent au cours du développement et nous en reparlerons par conséquent plus loin.

Il y a cependant encore un fait qui doit être signalé ici, et que les fig. 46, 47, 49 et 50, pl. X, mettent bien en évidence : il est assez fréquent de rencontrer, au milieu des masses insegmentées, de petites cellules mononucléées, bien isolées et généralement très régulièrement arrondies. L'existence de ces petites cellules est signalée également par O. Hertwig (98) dans les mêmes conditions, et cet auteur les rapporte, ainsi que les autres anomalies qui les accompagnent : polycentries, vacuoles, pigmentation etc. à l'action de la polyspermie ou de la surmaturation des œufs, mais sans préciser autrement leur mode de formation.

Il convient de faire remarquer que ces petites cellules arrondies et isolées ne se montrent pas à n'importe quel endroit de l'œuf, mais surtout, ainsi que le représente la fig. 46, dans le voisinage immédiat des zones segmentées, ou bien, mais cela est plus rare et visible seulement sur les blastulas déjà assez âgées, tout près de la surface de l'hémisphère infé-

rieur de l'œuf. Cette constatation permet de se rendre compte de leur origine : il est très probable que ce sont simplement des cellules formées à la périphérie de la zone insegmentée, lorsque celle-ci contenait encore des mitoses capables d'amener un cloisonnement cellulaire et ainsi que cela a été décrit. Secondairement, certaines de ces cellules perdent leurs adhérences avec la partie segmentée et émigrent dans la masse indivise, où elles s'arrondissent et continuent à vivre quelque temps. Jusqu'à présent je ne les ai jamais vu se diviser. Dans les stades plus âgés, lorsque les parties nécrosées sont expulsées, on peut souvent encore les retrouver. La fig. 47, pl. X, en est un exemple.

Conclusions et considérations générales.

Les faits décrits dans ce chapitre suffisent, je crois, à expliquer complètement la structure des œufs di- ou trispermiques au moment où va débuter la formation des feuillets germinatifs : les phénomènes de réglage rendent compte de la possibilité de l'existence de larves " pratiquement „ formées de cellules uniquement mononucléées ; les arrêts de la segmentation en certains points, l'évolution de ces zones et les raisons de leur nécrose finale peuvent, de même, expliquer l'apparence pathologique de certaines blastulas ou gastrulas. Des uns et des autres, c'est évidemment la polyspermie qui est la cause première : c'est à cause d'elle que le développement de ces œufs commence toujours par des cellules contenant deux noyaux et deux centrosomes ; c'est à cause d'elle qu'il y a tantôt des phénomènes de réglage, tantôt des arrêts de la segmentation. Mais il est de la plus haute importance de bien préciser la façon dont elle agit ici : c'est *uniquement en amenant la présence de deux noyaux et de deux centrosomes dans une cellule, mais ces noyaux peuvent êtres quelconques et il faudrait bien se garder de croire que, par exemple, les arrêts de segmentation se produisent de préférence dans les blastomères ne contenant que des noyaux mâles ; ce serait commettre une profonde erreur et méconnaître complètement le sens qu'il faut donner à ces arrêts tout aussi bien qu'aux phénomènes de*

régulation. Ni les uns ni les autres ne sont spécifiques de la polyspermie.

Tout ce que ce chapitre contient de faits peut et doit se ramener à des lois banales de dynamique cellulaire ; aucun processus de réglage n'est particulier à la polyspermie, non plus qu'aucun mécanisme d'inhibition du cloisonnement cellulaire. Tous ces faits ont été décrits de nombreuses fois, par de nombreux auteurs, et se représentent chaque fois que des circonstances mécaniques analogues à celles que crée la polyspermie sont amenées, soit par des expériences, soit par des accidents quelconques du développement. Si je puis, en conclusion de ce chapitre, avancer qu'il faut les attribuer à la polyspermie, il faut entendre uniquement par là que celle-ci s'est bornée à créer certaines conditions que toute une série d'autres facteurs amènent également et c'est, je pense, un fait des plus intéressants et qui mérite d'être quelque peu développé, de montrer *que la polyspermie est un procédé très commode d'expérimentation des lois de la dynamique cellulaire*, et d'autant plus précieux que les œufs restent toujours dans des conditions de milieu absolument normales.

Avant d'aborder l'examen des questions d'ordre général, nous passerons rapidement en revue quelques travaux se rapportant spécialement à la formation et à l'évolution des parties insegmentées des œufs de grenouille soumis à certaines influences. Je n'insiste plus ici sur les anomalies de la segmentation des œufs polyspermiques de *Rana fusca* ; au point de vue où nous nous plaçons, ces anomalies sont identiques à celles que présentent les œufs di- et trispermiques. C'est là un fait que Brachet signale d'ailleurs dans son travail, et il a bien voulu me laisser le soin d'en faire seul l'étude détaillée.

L'un de ceux qui ont le mieux observé les arrêts de la segmentation est O. Hertwig qui les décrit dans toute une série de travaux (95, 98 a et b) où il relate le résultat de ses expériences sur l'action de la force centrifuge, de températures élevées, etc. Il constate que la segmentation peut, dans certains cas, se localiser autour du pôle supérieur de l'œuf, qui prend

ainsi l'aspect d'un œuf méroblastique, avec un syncytium vitellin (Dottersyncytium). O. Hertwig a suivi l'évolution de ce syncytium au cours du développement et la description qu'il en donne est exactement celle que nous venons de faire : (98a) " Ziemlich zahlreiche, von Pigment eingehüllte Kerne sind in der obersten Schicht der Dottermasse zerstreut. Hier und da sind einzelne Zellen oder kleine Gruppen von ihnen in die nicht getheilte Dottermasse „. Il note aussi l'existence des mitoses polycentriques (98b) dont il donne une interprétation identique, en partie du moins, à celle que l'on a vue plus haut : " Hierbei ist auch an die Möglichkeit zu denken, dass derartige zusammengesetzte Figüren in der subgerminalen Schicht ([1]) dadurch entstehen dass benachbarte Kerne, wenn sie sich gleichzeitig in Spindeln umwandeln, näher zusammenrücken und mit den Polen zusammenlegen „.

Enfin Hertwig signale l'existence de vacuoles plus ou moins nombreuses et de grandeur variable, mais il n'explique pas leur formation, non plus que celle des cellules disséminées, seules ou en groupes, dans la masse insegmentée.

Konopacka (08), dans des œufs de *Rana* centrifugés, décrit aussi des segmentations bornées à la division, régulière ou non, du noyau, et signale, entr'autres anomalies, des cas de rupture du synchronisme des mitoses dans les premiers stades du développement.

On sait que Roux a décrit, à plusieurs reprises (88), l'aspect très particulier que présente la couche qui, dans un œuf dont il a détruit l'un des blastomères, forme la limite entre la partie vivante et la partie nécrosée.

Il y a là une bande de protoplasme parsemé de nombreuses irradiations, entièrement comparables à celles que j'ai décrites plus haut. Roux appelle ces formations des " Radiationsfigüren „, sans préciser leur origine. Plusieurs auteurs ont observé également les " Radiationsfigüren „ de Roux, et notamment Endres (96) et Bataillon (04), mais ne donnent aucun détail sur leur

---

([1]) Hertwig entend par là la masse vitelline restée indivise.

origine. C'est, d'ailleurs, ce qui m'a engagé à tenter de la débrouiller.

Toutes ces anomalies ont également été observées par Morgan (02 etc) au cours de toute une série d'expériences sur l'action d'agents extérieurs sur le développement de l'œuf de *Rana*, et par Jenkinson (06).

Nous voyons donc que rien qu'en ce qui concerne les observations sur cet organisme, nous avons déjà la preuve que la polyspermie artificielle reproduit à elle seule toute une série d'expériences; elle donne les mêmes résultats mais avec une précision incontestablement plus grande, puisque les moindres anomalies peuvent être suivies depuis leur apparition jusqu'à leur fin dernière.

Mais il y a d'autres travaux, très nombreux, qu'il importe de rappeler ici, d'autant plus importants pour nous qu'ils ont une haute portée biologique générale et se rapportent à des questions fondamentales de la théorie cellulaire. Il convient, pour la clarté de l'exposé, de les réunir en trois groupes principaux.

I. *Sur l'indépendance fonctionnelle du noyau au cours de la division cellulaire.*

Il serait impossible de rassembler ici toutes les observations de division incomplète d'une cellule : caryocinèse non suivie de cloisonnement. Ces observations sont innombrables et ont été faites presque dès le moment où on a observé méthodiquement la mitose.

L'un des premiers travaux où la question de l'indépendance fonctionnelle du noyau pendant la division cellulaire a été traitée expérimentalement est celui de Demoor (94), qui démontra la possibilité d'" immobiliser „ le protoplasme lors de la division, tandis que les phénomènes compliqués de la caryodiérèse évoluent normalement pour leur propre compte, en amenant finalement la cellule à contenir deux noyaux. Demoor obtient ce résultat par toute une série d'actions d'agents extérieurs et notamment des courants de différents gaz : anhydride carbonique, hydrogène, etc.

Ce genre d'expériences a été, depuis, répété avec succès par toute une série d'auteurs : O. Hertwig (98), Gerassimow (02-03), Loeb (92), Normann (96), Godlewski (08), Wilson (01), Driesch (93), Lillie (05), Teichmann (03). etc., etc.

Or il est bien certain que sans l'aide d'aucun agent artificiel qui puisse venir troubler la vitalité de la cellule, la polyspermie expérimentale, avec la technique de Boveri, nous fournit d'innombrables exemples de division nucléaire non suivie de division cellulaire (Kerntheilung ohne Zelltheilung). Boveri (07) et Teichmann (03) ont montré combien cette indépendance du noyau était à ce moment évidente, combien, en d'autres termes, il faut peu de choses pour que le cloisonnement de la cellule ne suive pas la mitose. Ce dernier auteur, surtout, a fort bien montré que même lorsqu'aucune action physique ou chimique ne trouble la vitalité du protoplasme, ce sont de simples hasards de la disposition de la figure de division, de simples et banales lois de mécanique qui suffisent à expliquer pourquoi, au cours de la cytodiérèse, noyau et protoplasme sont tantôt fonctionnellement unis, tantôt complètement indépendants. Il est évident qu'il faut tenir compte de ces faits pour donner leur juste valeur aux expériences de Demoor, Loeb, Wilson, etc., et se rappeler que la vitalité intacte du protoplasme n'est pas la seule condition pour qu'il soit uni au noyau dans l'une des manifestations les plus essentielles de la vie de la cellule : la division.

II. *Sur quelques points de la théorie du centrosome.*

L'une des conclusions les plus intéressantes à tirer de l'évolution des zones de l'œuf où la segmentation se borne au noyau, c'est certainement cette démonstration de l'indépendance du centrosome vis à vis du noyau et la véritable survie dont il fait preuve, en continuant à se diviser jusqu'à l'altération complète du protoplasme. Certains travaux sur le centrosome, certaines interprétations qu'on a donné de son origine, de sa constance ou de son importance comme " organe „ cellulaire, m'obligent à insister sur ce fait *que toutes les irradiations qui, à un certain moment, envahissent le protoplasme insegmenté, pro-*

viennent de la continuation des divisions des centrosomes qui accompagnaient chacun un noyau lors de la formation des polycaryons, et cela encore longtemps après que ceux-ci ont perdu le pouvoir de se diviser. Les figures qui ont servi à la description de ce processus sont bien démonstratives à cet égard et j'aurais pu en réunir des milliers d'exemples.

Encore une fois, la polyspermie donne ici, avec une précision vraiment remarquable, les mêmes résultats que toute une série d'expériences compliquées. Le travail de Wilson (01) sur les œufs éthérisés est, à ce point de vue, l'un des plus intéressants à rappeler ici. En faisant varier la durée de l'action de l'anesthésique sur l'œuf, cet auteur obtient, chez *Toxopneustes*, une série de divisions nucléaires non suivies de segmentation ; au fur et à mesure que les noyaux deviennent ainsi de plus en plus nombreux, Wilson les voit se gêner l'un l'autre puis, finalement, copuler en formant des polycaryons. Ses fig. 26, 27 et 28, pl. XIII, sont à comparer avec les fig. 56, 57, etc., du présent travail ; c'est exactement le même processus et l'aspect des polycaryons tout hérissés de petits centrosomes est tout aussi caractéristique. D'une façon générale, ces polycaryons sont volumineux, formés de nombreux noyaux et, comme nous, Wilson ne les voit pas se diviser ; par contre il décrit la division polycentrique de l'un d'eux qui était formé de 4 noyaux seulement. Mais où la comparaison devient tout à fait intéressante, c'est dans le sort qui est réservé à ces gros noyaux : absolument comme dans l'œuf di- ou tri- ou même polyspermique de *Rana fusca*, on voit peu à peu les centrosomes émigrer dans le protoplasme en continuant à s'y diviser. Wilson en conclut, de même à l'indépendance fonctionnelle du centrosome : „... the facts show, first, that the progressive multiplication of the centrosome may go forward without either cytoplasmic division or nuclear separation, a fact which, in accordance whith Boveri's observations strikingly demonstrates the persistence and independence of the centrosome „ (p. 371).

Cette observation de Mª Boveri dont parle Wilson et qu'il a eu l'occasion de faire également, n'est pas moins intéres-

sante : à la suite d'une segmentation anormale, Boveri (03) voit un œuf d'oursin donner naissance à deux blastomères, dont l'un emporte toute la chromatine tandis que l'autre ne contient plus désormais qu'un centrosome, représenté par l'un des pôles de la mitose. Cette cellule continue à se diviser ; Boveri y voit le centrosome parcourir régulièrement toutes les phases de son cycle d'activité, se diviser en 2, en 4, en 8 etc., malgré l'absence complète de toute chromatine. Au cours de ces divisions, ces centrosomes édifient entr'eux de véritables fuseaux achromatiques absolument comparables à ceux que représente la fig. 42 ou 81 et c'est, d'ailleurs, la même démonstration de l'indépendance du centrosome.

L'abandon des noyaux par les centrosomes et la continuation indépendante de la division de ces derniers est relatée également par Ziegler (98), par Yatsu (04, 05), dans des expériences de compression exercées sur des œufs, pendant leur segmentation, et par Kupelwieser (09) dans ses curieuses expériences de " pseudohybridations. „

Nous ne pouvons aborder ici la longue discussion soulevée par les travaux de Morgan (96), de Mead (98), de Meves (02), etc., qui n'admettent pas l'individualité du centrosome, telle que l'ont définie Ed. Van Beneden (83), puis Boveri (1900). Quoiqu'il en soit, il est certain qu'en ce qui concerne *Rana fusca,* tous les faits sont des arguments en faveur de l'existence propre du centrosome, en tant qu'organe cellulaire, indépendant et se reproduisant par division. Il est certain, également, que les multiples irradiations qui envahissent le protoplasme, au moment où la nécrose finale des parties insegmentées va débuter, n'ont rien de commun avec cette apparition simultanée de multiples centres, décrite par différents auteurs et surtout par Wilson (01) dans les œufs soumis à l'action de certains agents capables d'amener son développement par parthénogenèse expérimentale. Qu'il s'agisse ou non de véritables centrosomes néoformés dans ces œufs, leur origine ne peut se comparer à cette persistance de la vie des sphères attractives qui abandonnent les polycaryons trop volumineux

pour se diviser encore, puis évoluent pour leur propre compte.

III. *Sur les causes de la dégénérescence et de la nécrose des parties insegmentées* (1).

En abordant ce dernier point, nous quitterons plus ou moins le domaine des faits ; mais la théorie dont nous allons être obligé de nous rapprocher a pris, dans ces dernières années, une importance telle que nous ne pourrions la passer sous silence.

Il y a, dans le beau travail de Boveri sur les œufs dispermiques d'oursin, un long chapitre intitulé : *Versuch, die pathologische Wirkung mehrpoliger Mitosen durch Störung der Kernplasmarelation zu erklären* „ dans lequel cet auteur envisage la possibilité que, par la répartition inégale des chromosomes qu'elles déterminent, les mitoses polycentriques puissent détruire cet état d'équilibre qui existe entre la masse du noyau et la masse du protoplasme cellulaire, et que Richard Hertwig (03) a le premier réussi à démontrer. Nous aurons l'occasion de revenir longuement sur la "Kernplasmarelation„ à propos des grands embryons ; pour le moment, nous ne nous occuperons que d'une liaison *possible* entre cette relation et la dégénérescence qui frappe à un certain moment les parties non segmentées des œufs polyspermiques de *Rana fusca*.

Nous l'avons vu, l'évolution de ces parties devient nettement pathologique à partir du moment où apparaissent les mitoses en chaîne. Tous ce qui reste insegmenté est dès lors condamné, tandis que les dernières petites cellules mononucléées qui ont pris naissance à la périphérie de la masse, et dont la composition plasmatique est la même, sont définitivement en état de continuer pendant bien longtemps encore à vivre d'une vie active et à se diviser. C'est donc le fait que des mitoses incapables de produire une segmentation se produisent à un

(1) Les parties dont le creusement contribue à former la cavité de segmentation de certaines blastulas ne sont pas comprises ici, « la fonte » dont elles sont le siège étant tres différente de cette dégénérescence.

certain moment dans la masse indivise, qui semble marquer le début de sa dégénérescence. L'augmentation du nombre des noyaux, dans cette partie de l'œuf, se produisait avant comme elle continue encore à se produire par la suite, et la vaste cellule que constitue la partie qui a cessé de se segmenter ne meurt pas directement parce que le nombre de ses noyaux augmente constamment : *mais elle commence à s'acheminer vers la nécrose dès que ses noyaux, au lieu de se reproduire par des mitoses normales, commencent à se former par des mitoses anormales.* Or l'effet le plus essentiel de celles-ci, qui sont des mitoses polycentriques, est d'amener une répartition très inégale de la chromatine entre les noyaux qui continuent à se former ; ceux-ci commencent à devenir de dimensions très variables et il est de toute évidence que les uns contiennent plus d'éléments chromatiques que les autres. En d'autres termes, dès que les mitoses polycentriques entrent en scène, les parties non segmentées des oeufs de grenouille polyspermiques contiennent des noyaux qui, d'après la " Kernplasmarelation „, devraient correspondre, si on les envisageait individuellement, à des masses très variables de protoplasme.

Il semble bien établi par les recherches de Godlewski (08) que la relation entre la masse *totale* de substance nucléaire et la masse *totale* de protoplasme est indépendante de l'existence ou de l'absence d'une segmentation de cette masse en cellules : "die Kernsübstanzproduktion von der Plasmateilung ist unabhängig„ (p. 316). Il est fort possible que, de même, la "Kernplasmarelation„ soit respectée si on considère l'ensemble : la masse totale des noyaux et la masse totale du protoplasme des zones insegmentées des oeufs de *Rana fusca*. Mais la question se pose de savoir s'il faut considérer cette masse totale ou bien chaque noyau individuellement et le territoire de protoplasme qui l'entoure en formant avec lui et le centrosome une *énergide. Pour qu'un syncytium soit capable de vivre, faut-il*, en d'autres termes, *que la relation de masse entre le noyau et le protoplasme soit vérifiée pour chacune des énergides qui le composent, ou suffit-il qu'elle le soit pour l'ensemble seulement ?*

Si on considère vraiment dans l'énergide une unité physiologique et morphologique complète, une véritable cellule idéale, il n'est pas douteux que la première hypothèse soit la plus vraisemblable ; en tous cas c'est elle qui donne l'explication la plus satisfaisante de l'effet pathologique des mitoses polycentriques qui se produisent dans un syncytium. (1)

Nous verrons plus loin que des troubles de la "Kernplasmarelation„ seront responsables de toute une série de caractères pathologiques des grands embryons, mais ce n'est qu'ici, à propos de la dégénérescence des parties insegmentées de l'œuf, qu'il y a lieu d'envisager ses rapports éventuels avec les mitoses polycentriques, dont nous n'aurons plus l'occasion de nous occuper.

CHAPITRE VI.

La symétrie bilatérale dans les œufs de grenouille di- et trispermiques.

1. — *Résumé bibliographique.*

L'œuf de *Rana fusca* est certainement celui dont l'étude expérimentale a donné les résultats les plus importants dans la question, réellement fondamentale, de l'origine du plan de symétrie bilatérale de l'embryon et des problèmes connexes : principe de la délimitation des aires formatrices ou localisations germinales, potentialité des premiers blastomères, etc.

Nous commencerons donc par rappeler brièvement en quoi consiste exactement *le plan de symétrie de l'œuf de grenouille.* Les schémas VII et VIII sont destinés à montrer de quoi il s'agit et reproduisent, mais modifiés, ceux publiés par O. Schultze (99), qui est, avec Morgan et Tsuda (94), l'un des

(1) Il est nécessaire, je pense, d'insister sur ce fait que la dégénérescence du syncytium débute *après* l'apparition des mitoses polycentriques et non avant ; cela différencie nettement ce processus de ce qu'on observe souvent dans les cellules cancéreuses, où la polycentrie semble plutôt une conséquence d'un état pathologique préalable (cf. Cornil, Ströbe, von Hansemann, Pianese, etc.).

premiers auteurs qui se soient occupés de la question. Ces figures représentent l'oeuf tel qu'il est environ deux heures après la fécondation, artificielle et naturelle.

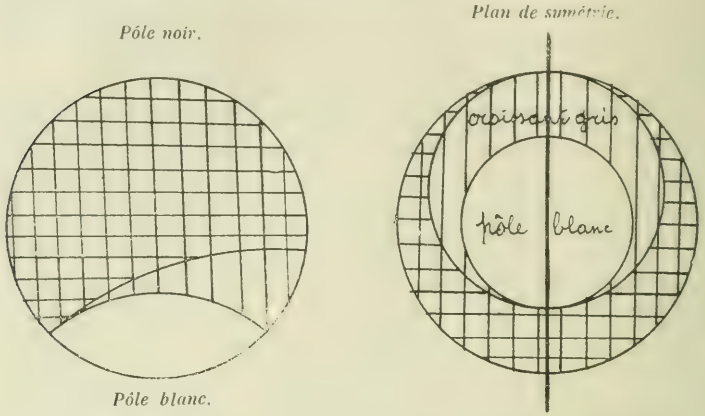


Schéma VII. Schéma VIII.

Dans le premier, l'oeuf est vu de profil, dans sa position habituelle, avec le pôle noir (ou animal) tourné en haut. D'un côté, la partie pigmentée (hâchurée) et la partie blanche sont séparées, à quelque distance du pôle inférieur, par une limite bien nette. De l'autre côté, la partie fortement pigmentée descend moins bas et se continue insensiblement dans une bande de transition, de couleur grisâtre.

Le second schéma représente l'oeuf vu par son pôle inférieur ; on voit encore très bien, d'un côté, la limite nette entre la partie pigmentée et celle qui ne l'est pas et, de l'autre, la bande de transition grisâtre. Vue ainsi, celle-ci a la forme d'un croissant, d'où le nom de *croissant gris* (grey crescent, graue Feld) sous lequel elle est universellement désignée. L'œuf présente donc une symétrie bilatérale évidente et seul le plan qui coupe le croissant gris en son milieu divise l'œuf en deux parties identiques, qui sont respectivement droite et gauche.

Or, si on examine n'importe quel embryon, on voit également qu'un seul plan le divise en deux moitiés symétriques : ce plan est-il le même que celui de l'œuf qui lui a donné naissance ?

Déjà longtemps, avant qu'il fût question de croissant gris, Newport (51) avait observé que, dans la grande majorité des cas, le premier sillon qui divise l'œuf de grenouille en deux blastomères devient le plan de symétrie bilatérale de l'embryon. Pflüger (83-84) fit la même observation un peu plus tard. Mais s'il était exact que ce premier sillon coïncidât avec le plan de symétrie de l'embryon, était-il lui même confondu avec le plan de symétrie de l'œuf, tel que O. Schultze venait de le définir ? C'est cette question très importante que Roux (83, 85, 87, 88, 92, 93) examina tout d'abord ; on sait qu'il fut conduit à admettre que dans le développement *typique*, c'est-à-dire celui dont le point de départ est entouré de conditions absolument normales, il y a coïncidence entre le plan de symétrie de l'œuf, le premier plan de segmentation et le plan de symétrie de l'embryon. D'après Roux, les deux premiers blastomères étaient donc strictement droit et gauche et la segmentation de l'oeuf devait être envisagée comme un véritable "travail de mosaïque„, suivant une expression devenue célèbre. Roux réussit à donner de sa conception du développement dit "typique„, une admirable démonstration expérimentale : en détruisant par piqûre, avec une aiguille chauffée, l'un des deux premiers blastomères, il obtint la formation, par le blastomère resté vivant, d'un hémi-embryon droit ou gauche selon qu'il détruisait le blastomère gauche ou droit.

Les expériences de Roux suscitèrent aussitôt un grand nombre de travaux, la plupart très importants. En réalité, le problème posé par ces faits était double : d'un côté l'étude de cette coïncidence entre le plan de symétrie de l'oeuf et le premier sillon, et, d'autre part, la question soulevée par les expériences de piqûre d'un blastomère, de savoir si la destinée du blastomère droit, par exemple, est fixée par sa constitution à un point tel qu'il ne puisse donner naissance qu'à la moitié droite du cor

C'est ce dernier point, sur lequel Roux se montre affirmatif, qui souleva les premières objections, notamment de la part d'O. Hertwig (93), qui vit le blastomère resté vivant former

non pas un hémi-embryon droit ou gauche, mais un embryon simplement monstrueux et dont le développement restait incomplet pour de seules raisons mécaniques.

Nous verrons plus loin la raison de cette divergence entre Roux et Hertwig.

D'autre part, tandis que O. Schultze (88) et Bataillon (96, 97, 01) confirmaient la coïncidence du plan de symétrie de l'œuf et du premier plan de segmentation, Kopsch (1900), Morgan (94, 95, 02, 06), Morgan et Boring (03), Jordan et Eycleshymer (92, 94), Brachet (03 et 04) et d'autres, n'attachaient pas à cette coïncidence une valeur absolue ; même dans les cas les plus normaux, ces auteurs trouvaient des écarts plus ou moins importants entre les plans de symétrie et de segmentation. Toutefois comme l'ont montré Morgan et Brachet, il y a toujours une forte proportion (environ 50 %) d'œufs où ces plans coïncident d'une façon pratiquement parfaite. Or, dans tous ces derniers cas, Brachet (04), Morgan, Morgan et Boring (95,04), Endres et Walther (09), Endres (96), obtiennent des hémiembryons droits ou gauches, selon qu'ils détruisent, lors de la première segmentation, le blastomère droit ou le blastomère gauche. C'est donc, en ce qui concerne les cas " typiques ", la confirmation des résultats obtenus par Roux.

Mais que se passe-t-il quand il y a obliquité du plan de segmentation par rapport au plan de symétrie ? Cette obliquité peut varier énormément, être de quelques degrés ou en atteindre 90, ainsi que Morgan et Boring et Brachet l'ont établi. Il en résulte que si on envisage le plan de symétrie bilatérale de l'œuf, les premiers blastomères ne seront plus l'un droit et l'autre gauche, comme dans le développement typique de Roux, mais seront, suivant les termes employés par Brachet (04), par exemple postérieur droit et antérieur gauche ou réciproquement, lorsqu'il y a simplement obliquité. Mais si, comme cela arrive dans certains cas, le plan de symétrie forme un angle droit avec le plan de la première segmentation, les deux premiers blastomères doivent être considérés respectivement comme antérieur et postérieur et destinés à donner, d'après

Kopsch, l'un la tête et le tronc, l'autre l'extrémité caudale (v. Brachet (1904), de l'embryon. Lorsque cette éventualité se produit, ce premier plan de division occupe la position qui est, dans les cas typiques, celle du second et réciproquement; d'après Roux, il y aurait là un véritable *anachronisme* de la segmentation, le second plan paraissant se produire avant le premier. Quant aux obliquités plus ou moins fortes, Roux les considère comme relevant de conditions anormales ayant agi sur l'œuf et ayant faussé ses constantes normales; il les réunit sous le nom de *développement atypique.*

Ces cas dits " atypiques „ soulèvent un problème très important: puisqu'il y a chez eux discordance entre le plan de symétrie bilatérale de l'œuf et le plan de segmentation, il faut se demander quel est, de ces deux, celui qui devient finalement le plan de symétrie de l'embryon; en d'autres termes, les deux premiers blastomères, qui ne sont plus l'un droit et l'autre gauche par rapport à l'œuf, donnent-ils encore naissance cependant l'un à la moitié droite, l'autre à la moitié gauche *de l'embryon?* Cette question a été définitivement tranchée par Brachet (04), qui a établi, par des expériences de piqûre de l'un des deux blastomères, dans des cas d'obliquité ou d'" anachronisme „, que " quelles que soient les relations réciproques du plan de symétrie avec le plan de la première segmentation, c'est toujours le premier qui devient le plan médian du corps, sans qu'aucun phénomène régulateur n'intervienne; le sort (prospektive Bedeutung) de chacun des deux premiers blastomères varie donc dans de larges limites; ils peuvent, selon les cas, donner la moitié droite ou la moitié gauche du corps, sa partie crâniale ou son extrémité caudale, ou encore tous les intermédiaires. „

Depuis lors, tous les observateurs ont reconnu que le développement atypique ne doit pas être nécessairement considéré comme anormal. Comme l'a fait remarquer O. Hertwig (93), le fuseau de la première mitose du noyau de segmentation a simplement *une tendance* à se placer perpendiculairement au plan de symétrie de l'œuf et cela explique

qu'il y ait une fréquence plus grande de cas typiques que de chacune des variétés de cas atypiques. Il est donc indéniable que le plan de segmentation perd toute son importance au point de vue de la symétrie bilatérale de l'embryon ; *le plan de symétrie de l'œuf*, au contraire, *se continue pendant tout le cours du développement et devient toujours le plan de symétrie de l'embryon.* La segmention est encore évidemment un travail de mosaïque, mais sa conception diffère de celle exprimée en premier lieu par Roux, en ce que la direction des plans de division est quelconque et ne modifie en rien la constitution initiale de l'œuf et la répartition de ses matériaux.

Mais quelle est cette répartition ? Quel est le facteur qui la détermine ? Quelle est l'origine, en dernière analyse, du plan de symétrie de l'œuf lui-même ? A quel moment se fixe-t-elle ? Toutes ces questions sont de la plus haute importance biologique mais extrêmement délicates à trancher et il a suffi de quelques expériences incomplètement ou mal interprétées pour embrouiller complètement le problème. Pour ne pas nous égarer, nous ne suivrons pas l'ordre chronologique des principales recherches entreprises à ce sujet, et dont une revue rapide est absolument nécessaire ici pour la compréhension de la suite de ce travail, mais nous réunirons celles qui se rapportent plus spécialement à l'une ou l'autre des faces de la question.

Cette symétrie bilatérale de l'œuf, si caractéristique, ne *paraît* pas être une propriété immanente de celui-ci, *du moins lorsque nous l'envisageons telle qu'elle se présente dans le développement normal.* Le " croissant gris „ qui est la manifestation extérieure qui la rend visible à nos yeux, n'apparaît qu'à un certain moment avec ces caractères typiques, en général deux heures environ après l'imprégnation des œufs, ou après leur sortie du corps de la mère, s'il s'agit de pontes naturelles. Ce point a été établi par Roux (1900, 02, 03), par O. Schultze, par Brachet (04, 06), par Morgan (06), etc.

Mais, dans cette voie, l'expérimentation a donné des résultats autrement précis que la simple observation. Roux (92) et surtout Brachet (06) ont démontré que les expériences de

piqûre d'une partie de l'œuf n'ont pas le même résultat avant la fécondation et lors de la première segmentation : si, avant la pénétration du spermatozoïde, l'œuf possède réellement une symétrie bilatérale comme le pense O. Schultze, cette symétrie *n'est pas encore fixée*: l'œuf est encore doué d'un pouvoir régulateur parfait et donne naissance non pas à un embryon partiel, mais à un embryon complet et seulement plus petit que normalement, dans une proportion qui dépend de l'importance de la masse de l'œuf qui a été détruite. Entre le moment de la ponte et celui où l'œuf se segmente, *il se passe donc quelque chose* qui crée en lui une répartition désormais immuable des matériaux. Ce sera l'un des arguments que Roux invoquera lorsqu'il considèrera la fécondation comme cause directe de la formation du plan de symétrie de l'œuf. Mais ses recherches manquent de précision en ce sens qu'entre ces deux limites où il place " l'arrangement „ (Umordnung) définitif de l'œuf, il s'écoule un temps assez considérable (3 à 4 heures en moyenne), pendant lequel d'autres facteurs que la fécondation agissent sur l'œuf. Préciser exactement le moment où l'œuf perd son pouvoir régulateur, était le but visé par Brachet (06) dans ses recherches expérimentales sur l'œuf non encore segmenté ; en espaçant les moments où il détruit une certaine portion de celui-ci sur toute la période qui commence à la ponte et se termine à la première segmentation, Brachet est arrivé à pouvoir placer *le moment où la symétrie de l'œuf se crée et se fixe définitivement, immédiatement après la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf*, c'est à dire une heure, en moyenne, après la ponte, ce temps étant employé par les spermatozoïdes à traverser la gangue gélatineuse qui entoure les œufs.

Il convient toutefois de préciser ici ce qu'il faut entendre par perte *définitive* du pouvoir régulateur. Dans les conditions normales, on peut être complètement affirmatif : les expériences de Roux, de Brachet ne laissent aucun doute à cet égard. Quant aux résultats contradictoires obtenus par O. Hertwig, ils proviennent d'une interprétation défectueuse des expériences, cet auteur n'ayant pas établi l'indispensable distinction

à faire entre le développement typique et les cas atypiques et ses figures sont, à ce point de vue, plutôt des arguments que des objections à la théorie de l'anisotropie de l'œuf.

Mais il y a d'autres expériences, extrêmement intéressantes, d'O. Schultze (95), de Wetzel (95, 96), de Morgan (95) qui démontrent la possibilité d'obtenir un embryon *complet* mais plus petit de moitié, aux dépens de *chacun* des deux premiers blastomères d'un œuf de *Rana*, de sorte qu'au lieu de donner un seul embryon, l'œuf segmenté en deux et *soumis à certaines manipulations*, en donne deux qui sont plus ou moins nettement séparés et forment un " monstre double „ (Doppelbildung). Il convient de souligner qu'il ne s'agit pas ici d'œufs laissés dans les conditions normales : on les immobilise entre deux lames de verre puis, lorsqu'ils sont segmentés en deux, on les retourne, le pôle blanc en haut : ce n'est que dans ces conditions et en amenant un bouleversement complet des matériaux ovulaires, puis leur nouvelle répartition suivant un certain ordre à l'intérieur de *chaque* blastomère, qu'on obtient, dans une certaine mesure, la restitution à l'œuf de son pouvoir régulateur. Encore faut-il, ainsi que Brachet le fait remarquer (04), pour obtenir deux embryons à peu près complets, que le premier plan de segmentation ait coïncidé avec le plan de symétrie de l'œuf ; si les deux blastomères ne sont pas sensiblement l'un droit et l'autre gauche, leur capacité évolutive qui ne leur permettrait que de donner, par exemple l'un un hémi-embryon postérieur gauche, l'autre un hémi-embryon antérieur droit, est fort diminuée, leur pouvoir de " Selbstdifferenzierung „ est considérablement réduit, et cela explique le déchet considérable de ces expériences.

S'il fallait se borner à émettre une hypothèse sur la cause même de la répartition des matériaux de l'œuf et de sa symétrie bilatérale, en se basant uniquement sur les travaux dont nous venons de parler, de Roux et de Brachet d'une part, d'O. Schultze, Wetzel et Morgan d'autre part, on aboutirait certainement à invoquer tantôt une conséquence directe de la fécondation, tantôt une action de la pesanteur. Or tel est pré-

cisément le terrain de la discussion relative à l'*origine du plan de symétrie*.

L'idée que la pesanteur était la cause directe de la répartition des matériaux ovulaires a été défendue surtout par Moszkowski (01, 02, 03). Cette théorie paraissait fort séduisante, mais il faut dire qu'aujourd'hui elle ne peut plus résister aux arguments que les partisans d'une action de la fécondation ont élevés contre elle. Il n'est pas douteux, évidemment, que la pesanteur agit directement sur la stratification des matériaux de l'œuf, qui ont des poids spécifiques différents, et les expériences de Born (85), d'O. Schultze, etc., le démontrent. Mais il y a, dans la symétrie bilatérale de l'œuf de *Rana, d'autres phénomènes* que cette stratification, des phénomènes de la plus haute importance et que l'action de la pesanteur ne suffit pas du tout à expliquer.

L'un des plus intéressants est certainement ce fait constaté par Roux (87), que la traînée pigmentaire laissée par le spermatozoïde est toujours dans la moitié de l'œuf opposée à celle qui contient le croissant gris : comme le spermatozoïde peut entrer en un point quelconque de la surface de l'hémisphère supérieur de l'œuf, il faut bien admettre que la position du croissant gris se règle sur l'endroit de pénétration du spermatozoïde, ce qui est déjà un rapport bien curieux, dans l'hypothèse d'une action de la pesanteur. Brachet (04), qui a confirmé ce fait et Roux (87) ont, en outre, établi que le méridien de symétrie de l'œuf passe par le point d'entrée du spermatozoïde, coïncide donc avec le méridien de fécondation. Roux est même parvenu à faire pénétrer le spermatozoïde en un point déterminé de la surface de l'œuf (expériences de fécondation localisée) et, si on tient compte des difficultés techniques de l'opération, on peut dire qu'il obtient un résultat magnifique : le plan de symétrie passe, lorsque l'expérience réussit, par le point de la surface qu'on a choisi d'avance. Je n'insiste pas sur la tentative de Moszkowski (02) d'expliquer ces faits par l'action d'un " courant „ de protoplasme, produit par la pesanteur et entraînant le spermatozoïde dans une direction déterminée (Strömungsmeridian).

Il y a encore d'autres arguments en faveur d'une action directe de la fécondation sur la symétrie bilatérale de l'œuf : les expériences de Roux (1900-03), de Morgan (02-06) et de Kathariner (01, 02, 04), qui démontrent que l'établissement de cette symétrie se fait de façon entièrement normale dans des œufs soustraits, par divers moyens, à l'action de la pesanteur ; ce fait démontré par Brachet (06) que, même après 30 minutes d'action continue de la pesanteur dans le même sens, les œufs gardent encore un pouvoir régulateur parfait, jusqu'au moment précis de la pénétration des spermatozoïdes; l'identité du croissant gris qui apparaît en même temps sur tous les œufs d'une même ponte, malgré les positions les plus diverses qu'ils occupaient par rapport à la verticale, fait signalé par R. Hertwig (03) et par Brachet (04, 06).

La création ou la fixation indélébile de la symétrie bilatérale de l'œuf semble donc bien être un des résultats de la fécondation.

On voit par cet exposé de l'état actuel des questions soulevées par la seule étude de l'œuf de *Rana*, combien celui-ci constitue un matériel de premier ordre.

Il est certain aussi que ce que nous venons de voir des rapports qui relient la fécondation à la constitution définitive de l'œuf suffirait à lui seul à justifier l'étude spéciale de la symétrie bilatérale des œufs polyspermiques et di-ou trispermiques.

Les résultats obtenus dans cette voie par Brachet (1910 b) à propos des œufs polyspermiques sont très importants. Nous les passerons en revue, avant d'aborder l'exposé des recherches sur les œufs seulement di-ou trispermiques.

Un premier point important qui se trouve définitivement établi, est l'existence constante d'un croissant gris sur les œufs polyspermiques de *Rana fusca* et, par conséquent, d'une symétrie bilatérale. Ni la dimension, ni l'aspect, ni le moment de l'apparition du croissant gris ne sont altérés, tant que, toutefois, la polyspermie n'est pas tellement intense qu'elle détermine presqu'immédiatement la dégénérescence et la mort de l'œuf. Brachet démontre ensuite que le plan de symétrie n'a de relations ni avec les plans de segmentation, ni avec la grandeur des

blastomères, ni avec la répartition ou les dimensions des énergides spermatiques et que sa " fixité „ au cours du développement, est exactement la même que dans l'œuf normal. Ces faits et ceux que l'étude des œufs monospermiques a démontré, ont conduit Brachet à établir cette conclusion que " (p. 52) l'*œuf pondu de Rana fusca a une symétrie bilatérale primaire : la polyfécondation la maintient en la fixant et en la stabilisant. La symétrie bilatérale de l'œuf monospermique normal est secondaire et créée par le spermatozoïde.* Il en découle une autre conséquence, en apparence paradoxale, c'est que la polyspermie modifie moins les propriétés fondamentales que l'œuf a acquises au cours de son développement, que ne le fait la monospermie. „

En d'autres termes, la manière dont agit le spermatozoïde unique de la fécondation normale sur la symétrie bilatérale de l'œuf est une conséquence du fait qu'il produit une " irritation localisée „ en un seul point de la surface de l'œuf où il pénètre, tandis qu'en provoquant simultanément cette même action en de nombreux points, les multiples spermatozoïdes de la polyfécondation déterminent une " réaction en masse „ de l'œuf entier, qui stabilise et fixe définitivement la symétrie qu'il possédait par lui-même, mais qui n'était nullement immobilisée dans un sens plutôt que dans un autre.

Nous aurons à revenir sur ce point, mais nous disposons maintenant de tous les renseignements nécessaires à la compréhension de la symétrie des œufs di-et trispermiques.

*
* *

2. *Recherches personnelles.* — Il est nécessaire de séparer complètement ici les œufs dispermiques des œufs trispermiques ; ces deux degrés de la polyspermie se comportent d'une façon entièrement différente en ce qui concerne les questions qui se rattachent à la symétrie bilatérale de l'œuf.

a) *Œufs dispermiques.* — Le premier point à établir est évidemment l'existence, chez les œufs dispermiques de grenouille, d'une formation quelconque comparable au croissant

gris des œufs normaux et permettant, comme lui, de conclure à l'existence d'une symétrie bilatérale. Nous avons vu que dans les cultures monospermiques, le croissant gris présente ses caractères typiques dès deux heures au plus après la fécondation artificielle ou après la ponte ; mais à ce stade, il est encore impossible de voir la moindre différence entre les cultures témoins et les cultures polyspermiques. Mais cela n'a aucune importance ; le croissant gris, une fois apparu, se maintient avec tous ses caractères et sans se modifier en rien, bien au-delà de la fécondation et de la première segmentation. Rappelons-nous que ce n'est que lors de leur seconde division, que les œufs dispermiques peuvent être isolés des œufs normaux ; il faut donc attendre ce moment pour rechercher chez eux les traces d'une symétrie bilatérale. Si, alors, on les retourne et si on examine leur pôle inférieur, on voit exactement ce que représente la fig. 60, pl. XI, qui a été faite d'après nature et avec le plus grand soin : on ne peut pas imaginer un croissant gris plus net, plus typique que celui dont l'existence saute ici aux yeux, même à l'examen le plus rapide. Et il en est ainsi de tous les œufs dispermiques que j'ai examinés : tous, sans aucune exception, avaient un croissant gris et, toujours, celui-ci avait exactement le même aspect, la même étendue que chez les œufs de même âge des cultures témoins de la même ponte.

Il ne peut subsister à cet égard aucun doute : *les œufs dispermiques de Rana fusca ont un croissant gris et une symétrie bilatérale typique.*

Mais l'existence même de ce croissant gris pose toute une série de questions. Est-il réellement l'équivalent du croissant gris des œufs normaux ? Devient-il le plan de symétrie de l'embryon ? Quels sont ses rapports avec le premier plan de segmentation ? A-t-il des relations avec les traînées pigmentaires spermatiques ? S'agit-il d'une symétrie bilatérale primaire, comme chez les œufs polyspermiques ? Ou bien est-elle secondaire et déterminée par la fécondation, comme dans la monospermie ?

Pour y répondre, il est indispensable de procéder avec méthode et nous suivrons, autant que possible, l'ordre dans lequel ces mêmes questions se posent à propos de l'œuf normal; la comparaison entre celui-ci et l'œuf dispermique en ressortira d'autant mieux.

La fig. 60 semble indiquer une coïncidence parfaite entre le plan de symétrie de l'œuf et le premier sillon mais, fait intéressant, cet œuf s'est trouvé, parmi plus de trente, le *seul* où cette concordance existait; par contre, j'en ai trouvé *dix-sept* où il y avait " anachronisme „ de la segmentation, le premier plan de division étant perpendiculaire au plan de symétrie; parmi les autres œufs, on trouve tous les cas d'obliquité, mais cependant avec une fréquence plus grande d'obliquités très fortes, voisines de l'anachronisme complet.

Chez l'œuf dispermique, le développement dit " typique „ est donc une exception et l'anachronisme est le cas le plus fréquent, parmi toutes les formes possibles du développement dit " atypique „. Mais, pas plus que chez l'oeuf normal, il n'y a ici aucun rapport *constant* entre le plan de symétrie bilatérale de l'œuf et le plan de la première segmentation; les deux premiers blastomères ne sont pas forcément l'un droit et l'autre gauche; mais, tandis que chez l'œuf normal il y a *une tendance* à ce qu'il en soit ainsi, chez l'œuf dispermique il y a *une tendance* à ce qu'ils soient l'un postérieur (ou mieux caudo-ventral) et l'autre antérieur (ou crânio-dorsal). Nous verrons plus loin l'explication de cette sorte d'inversion des rapports du plan de symétrie.

J'ai montré (ch. IV) que, dans la segmentation de l'œuf dispermique, seuls les deux plans de division qui, simultanément, coupent le premier sillon ont une orientation à peu près constante, que dès la troisième division, il devient impossible de tracer un plan quelconque de cette segmentation, qu'il y a là, dans l'évolution de l'oeuf, une période où il n'intervient en aucune façon, où il est simplement fractionné en cellules de plus en plus petites qui ont, chacune, des raisons particulières de se diviser de telle ou telle manière. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce qu'on ne puisse trouver aucun rapport entre la

symétrie bilatérale de cet oeuf et la direction des premiers plans de segmentation ou la grandeur des cellules qui se forment successivement.

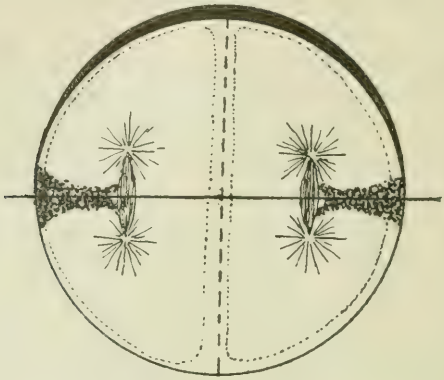


Schéma IX.

Si nous passons maintenant à l'examen des coupes, nous y trouvons des renseignements du plus haut intérêt. On sait que le plan de symétrie bilatérale se retrouve très facilement sur les coupes passant un peu en dessous de l'équateur : on entame alors à la fois la partie de l'œuf où le pigment cortical descend le plus bas (voir les schémas VII et VIII, page 238) et la partie où se trouve le croissant gris, qui apparaît ici comme à peine pigmenté ; les schémas IX, X et XI pp. 250-51, mon-

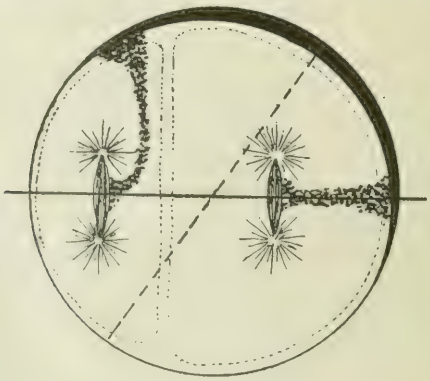


Schéma X

trent bien cet aspect ; il suffit de mener le diamètre de l'oeuf passant par l'endroit le plus pigmenté et l'endroit qui l'est

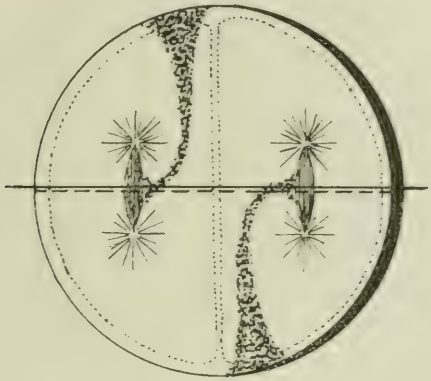


SCHÉMA XI.

moins pour avoir très exactement la direction du plan de symétrie, à condition, toutefois, que l'oeuf ait été coupé bien parallèlement au plan équatorial, sans quoi la distinction entre la partie noire de l'écorce et la partie incolore n'a plus aucune valeur. Une fois qu'on a repéré la position du plan de symétrie, il faut, si on veut étudier ses rapports, projeter sur la coupe l'image de tous les détails de structure de l'oeuf : traînées pigmentaires spermatiques, énergides, etc. qui, nous l'avons vu, sont localisées dans l'hémisphère supérieur. Les fig. IX, X et XI sont donc des reconstitutions ; les œufs sont âgés de 2 heures 1/2 : lorsqu'on étudie les coupes, il n'est plus nécessaire, en effet, d'attendre la deuxième division pour reconnaître les œufs dispermiques, l'existence de deux traînées pigmentaires suffisant à éviter toute erreur.

Ces figures doivent attirer l'attention sur trois points. Elles montrent d'abord qu'il n'y a *aucun rapport entre le plan de symétrie et la forme, la grandeur ou l'orientation des énergides spermatiques.* Il est surtout important de constater cela dans la fig. X, où ces énergides sont si manifestement inégales, parce qu'on pourrait supposer un rapport quelconque entre le plan de symétrie et l'énergide du spermatozoïde qui exerce,

par l'intermédiaire de son centrosome, une influence sur la plus grande partie de l'oeuf ; on voit qu'il n'en est rien.

On remarquera aussi que *l'orientation des figures de division par rapport au plan de symétrie* est quelconque, elle aussi ; cela explique déjà une partie de ce que l'examen extérieur de l'oeuf nous a donné, au sujet des rapports de ce plan avec celui de la première division.

Enfin, troisième fait et de beaucoup le plus important, dans les fig. IX, X et XI, *le plan de symétrie passe exactement entre les deux points de pénétration des spermatozoïdes* et entre les parties immédiatement voisines (Penetrationsbahn) des traînées pigmentaires. *Ce rapport est absolument constant* et je n'ai pas rencontré une seule exception sur 38 œufs dispermiques examinés ; *il est toujours le même, que les points de pénétration soient très rapprochés, un peu éloignés l'un de l'autre ou diamétralement opposés.*

Tels sont les faits que montre l'étude de la symétrie bilatérale dans les œufs dispermiques de *Rana fusca.* Ils comportent un certain nombre de conclusions.

L'existence même d'une symétrie bilatérale chez eux, absolument comparable à celle des œufs normaux, est à retenir parce qu'elle démontre que la pénétration de deux spermatozoïdes et la polyfécondation partielle qui en résulte, comme nous l'avons vu, sont compatibles avec une répartition des matériaux ovulaires semblables à la répartition normale et faite suivant un seul plan. L'individualité de l'œuf ne s'en ressent pas le moins du monde ; il ne manifeste aucune tendance à modifier la disposition générale de la structure qu'il prend définitivement, et dont l'aboutissement naturel est la formation d'*un* embryon. Ainsi que l'a déjà fait remarquer Brachet (1910b), qui est arrivé à la même conclusion par l'étude des oeufs polyspermiques, c'est là une démonstration définitive d'un fait déjà établi par déduction par Boveri (07) : ce n'est pas une perturbation de la symétrie bilatérale de l'œuf qui doit être tenue pour responsable des caractères pathologiques qui accompagnent toujours le développement des œufs rendus artificiellement di-tri-ou polyspermiques. On sait que

cette explication de la mort plus ou moins rapide de ces œufs avait été proposée par Driesch (06, 08) à la suite des travaux de Roux et de Brachet, qui démontraient les rapports étroits qui existent, dans la fécondation normale, entre la pénétration du spermatozoïde et la symétrie bilatérale de l'œuf. Depuis la publication du travail de Boveri sur les œufs dispermiques d'oursin, Driesch (09) a abandonné sa première manière de voir. Mais il n'est pas douteux que grâce à leur pigmentation, si précieuse dans l'étude de cette question, les œufs de *Rana* sont beaucoup plus démonstratifs que ceux des Echinodermes.

J'aborde maintenant la discussion des rapports entre le plan de symétrie et les deux traînées pigmentaires. Le fait, absolument constant jusqu'à présent, qu'il passe *entre* les traînées et, autant qu'on puisse le préciser, à égale distance de l'une et de l'autre doit, je pense, être considéré comme un argument nouveau et de beaucoup de poids en faveur de l'action directe de la pénétration du spermatozoïde sur la répartition définitive et symétrique des matériaux constitutifs de l'œuf ou, en d'autres termes, de la théorie que *c'est le spermatozoïde qui crée et stabilise la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé.* Une action directe et individuelle de chaque spermatozoïde est, en effet, la seule façon de comprendre l'orientation constante du plan de symétrie des œufs dispermiques ; en passant toujours entre les deux points de pénétration, quelle que soit leur position l'un par rapport à l'autre, le plan de symétrie s'impose à l'esprit comme étant la *résultante* de deux influences égales et indépendantes ; l'œuf est également sollicité de deux côtés ; chaque spermatozoïde tend à s'approprier la direction finale et définitive du plan de symétrie ; comme celui-ci est, nous l'avons vu, unique dans tous les cas, que la symétrie est toujours et uniquement bilatérale, si l'œuf répond aux deux actions qui s'exercent sur lui, ce plan ne pourrait être autre chose qu'une résultante.

Il est inutile d'insister sur le fait que la seule action de la pesanteur est totalement impuissante à expliquer les relations du plan de symétrie de l'œuf dispermique de grenouille et que

celles-ci constituent, évidemment, une objection de plus à la théorie de Moszkowski.

Un point encore qui doit attirer notre attention, c'est que de ces deux spermatozoïdes qui, manifestement, sont aussi importants l'un que l'autre au point de vue de la création de la symétrie bilatérale de l'œuf, un seulement, nous l'avons vu, copule. Il est donc nécessaire de préciser ce que l'on entend par le mot " fécondation „, lorsqu'on dit que cette symétrie est l'une de ses conséquences : cela n'est vrai que si on fait abstraction de ses phénomènes nucléaires ; les œufs dispermiques de *Rana* le démontrent bien, *la copulation des pronuclei n'a rien à voir avec la symétrie bilatérale de l'œuf ;* ce qui la crée et ce qui la stabilise, ce sont les phénomènes qui se passent *tout au début* de la pénétration du spermatozoïde et cela sans préjudice de ce que ce spermatozoïde deviendra par la suite : c'est toujours entre les points de pénétration ou les parties tout à fait initiales des traînées que passe le plan de symétrie dans l'œuf dispermique et, ainsi que Roux (87) et Brachet (04) l'ont montré, c'est toujours par ces mêmes points de repère qu'il passe dans l'œuf normal ; mais ses rapports avec la "traînée de copulation„ sont quelconques, celle-ci étant du reste, nous l'avons vu, au moins en ce qui concerne les œufs dispermiques et trispermiques, simplement la trace des déplacements imposés mécaniquement au pronucleus mâle par le développement de son énergide, et cela qu'il s'agisse ou non du spermatozoïde copulant.

L'absence de tout rapport *constant* entre le plan de symétrie et la forme, la grandeur ou la disposition des énergides spermatiques suffirait déjà à nous faire admettre l'absence de tout rapport entre lui et le centrosome spermatique lui-même. Le fait que le plan de symétrie dépend au contraire de la position du point de pénétration et de la partie tout à fait initiale de la traînée pigmentaire indique manifestement que l'action " ordonnatrice „ (Umordnung) que le spermatozoïde exerce sur l'œuf, action que l'état actuel de nos connaissances ne permet pas de préciser, se produit *avant* que le centrosome spermatique soit entré en activité. Tout démontre qu'il est

aussi étranger à la création du plan de symétrie bilatérale que la copulation des pronuclei et c'est là un fait très remarquable, si on se rappelle combien sont intenses les modifications qu'il apporte dans la structure " visible „ de l'œuf. Si la formation des énergides spermatiques détermine un bouleversement manifeste des matériaux de l'œuf, il n'en est pas moins vrai que ces modifications ne sont pas les seules qui se produisent ; il y en a d'autres, beaucoup plus importantes, beaucoup plus durables, mais plus intimes, plus cachées et plus inaccessibles à nos moyens d'investigation : ce sont celles qui amènent la formation définitive de la symétrie bilatérale de l'œuf. Il y aurait donc deux processus bien distincts et complètement indépendants dans les seuls phénomènes " dynamiques „ de la fécondation, et il convient de faire remarquer qu'ils ne sont pas seulement indépendants à cause d'une succession dans le temps : ce n'est pas immédiatement au moment de la pénétration du spermatozoïde que la symétrie bilatérale de l'œuf est établie : ce moment marque simplement le début des phénomènes, absolument inconnus, qui vont la fixer définitivement et qui agissent ou se produisent de proche en proche, concentriquement au point de pénétration qui en sera un " point axial „. Les expériences de Brachet (06) ont démontré qu'il s'écoule environ 30 minutes entre le moment de la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf et celui où sa symétrie bilatérale est *complètement* fixée ; de même, ce n'est, en moyenne, qu'une heure $^3/_4$ à deux heures après l'imprégnation que le croissant gris se présente avec son aspect définitif. Or, les coupes faites dans les œufs âgés d'une heure et demie à deux heures montrent déjà des modifications très importantes amenées par l'activité du centrosome spermatique (v. chapitre 1er). *Il en résulte que les deux processus qui amènent, l'un la stabilisation de la symétrie bilatérale de l'œuf et l'autre un bouleversement complet de sa structure visible, évoluent côte à côte, simultanément et parfaitement indépendants l'un de l'autre. Mais tous deux sont des conséquences directes de la pénétration d'un spermatozoïde.*

Avant d'aborder l'étude des œufs trispermiques, il reste à chercher une explication de l'inversion que nous avons cons-

tatée, chez les œufs dispermiques, des rapports *les plus fréquents* entre le plan de symétrie et le premier plan de segmentation : je rappellerai que, chez eux, l'anachronisme complet de la segmentation et les très fortes obliquités de ces deux plans sont les cas les plus fréquents, alors que c'est précisément le contraire chez les œufs normaux.

Il suffit, pour cela, de se rappeler : 1° que le plan de symétrie des œufs dispermiques ne dépend que de la position des points de pénétration des spermatozoïdes; 2° que le plan de segmentation ne dépend (v. chap. III) que de l'orientation des figures de division qui, elle-même, n'est qu'une résultante de la forme des énergides spermatiques. Ces deux rapports suffisent à expliquer les trois schémas, fig. IX, X et XI, p. 250-251, qui représentent, par ordre de fréquence, les trois types fondamentaux de la disposition des plans de symétrie et de segmentation : anachronisme complet, forte obliquité, concordance.

La disposition qui entraîne l'anachronisme est de beaucoup la plus fréquente parmi les œufs dispermiques; c'est le cas typique par excellence, avec les deux traînées pigmentaires quittant la surface en des points diamétralement opposés, puis s'enfonçant radiairement en gagnant sans déviation le centre des énergides spermatiques ; celles-ci prennent la forme de deux hémisphères, les figures de division s'y orientent parallèlement, déterminent la formation d'un plan de segmentation qui coupe les deux traînées et, par le fait même, fait un angle de 90° avec le plan de symétrie bilatérale.

Pour que cet angle soit seulement de 45°, il faut déjà que l'une au moins des traînées pigmentaires décrive un coude prononcé ; il faut donc que l'un des centrosomes ait été dévié par l'autre et ce cas est déjà moins fréquent.

Enfin le schéma XI, qui représente le seul cas de concordance que j'aie rencontré, suffit à expliquer cette rareté : les deux énergides spermatiques ont ici “ glissé „ l'une sur l'autre : d'après la position des points de pénétration, cet œuf était sur le point d'être un cas “ typique „ de dispermie, tel que le représente le schéma IX, dont il aurait présenté la disposition ; mais pour une cause inconnue, une véritable rotation des énergides

l'une sur l'autre s'est produite et a amené la disposition que l'on voit : on comprend que cela soit aussi rare. C'est donc le seul cas où, on peut en être certain, la destruction de l'un des premiers blastomères eût amené, aux dépens de l'autre, la formation d'un hémi-embryon latéral droit ou gauche.

Il est un dernier point que je tiens à mettre en évidence, parce que nous aurons à recourir à lui plus d'une fois au cours de notre examen des grands embryons : dans le schéma IX, qui représente donc le cas le plus fréquent chez les œufs dispermiques, on voit que les deux *énergides spermatiques* (mais non pas les deux premiers blastomères) sont respectivement l'une droite et l'autre gauche. C'est un fait à retenir.

Faut-il insister maintenant sur la distinction à établir, dans la question de la symétrie bilatérale, entre les œufs dispermiques de *Rana* et les œufs polyspermiques ? Chez les premiers, tout nous conduit à admettre que leur symétrie bilatérale est déterminée, au même titre, par la pénétration des deux spermatozoïdes ; la résultante de leur action individuelle remplace, exactement, ce que peut faire le spermatozoïde unique de la fécondation normale.

Chez les seconds, Brachet (1910 b) a conclu de ses observations que la symétrie bilatérale existe par elle même dans l'œuf et se fixe par une réaction totale de celui-ci, au moment où il reçoit à sa surface un nombre plus ou moins grand d'excitations, à la fois et en des points très différents, lors de la fécondation par conséquent.

En dernière analyse, le point important, la *fixation* de la symétrie bilatérale, l'orientation définitive qu'elle donne à l'œuf et qui fait qu'il ne donnera pas naissance à un embryon d'une façon quelconque, mais uniquement en respectant, au cours des manifestations successives des potentialités qu'il contient, un plan déterminé d'avance et immuable si son développement est livré à lui-même, cet acte essentiel et cause première de toute l'ontogenèse, c'est, dans tous les cas, une conséquence directe de la fécondation, normale ou anormale.

b) *Œufs trispermiques.* — L'étude de la symétrie bilatérale des œufs trispermiques est infiniment moins fructueuse. Il

importe cependant de donner à son sujet quelques indications.

Tout d'abord, ont-ils un croissant gris et une symétrie bilatérale typique ? Les fig. 62 et 63 qui représentent deux œufs trispermiques âgés de 3 heures $^1/_2$ et 4 heures dispensent de faire une description : c'est, encore une fois, un croissant gris aussi caractéristique, aussi net qu'on peut le souhaiter.

Il n'y a, chez eux non plus, aucun rapport avec les trois plans qui ont ici la valeur du premier sillon des œufs normaux ou dispermiques, ni avec aucun autre plan de la suite de la segmentation.

Enfin, si on étudie les coupes, on constate qu'il n'y a aucun rapport *constant* entre le plan de symétrie et les traînées pigmentaires. Il n'est pas impossible que les œufs trispermiques constituent, à ce point de vue, une transition entre les mono- et dispermiques d'une part, les polyspermiques d'autre part.

Mais je ne puis donner aucune indication plus précise pour le moment.

*
* *

La réunion des nombreuses données sur la question primordiale de la symétrie bilatérale, sur sa valeur, son origine ou ses rapports, fournies par la seule étude des œufs de *Rana fusca* (normaux, polyspermiques et dispermiques) constitue donc un ensemble extrêmement important. Aucun autre organisme n'a pu se prêter, jusqu'à présent, à une investigation aussi approfondie et qui peut s'aider tour à tour de la simple observation ou de l'expérimentation la plus délicate.

Il va de soi, cependant, que cette étude si féconde perdrait une grande partie de son intérêt si on n'avait pu en retrouver les points essentiels chez d'autres organismes. Or il y a, actuellement déjà, de nombreux travaux qui démontrent, avec plus ou moins de certitude, que la question du plan de symétrie bilatérale de l'œuf et de la répartition des matériaux qui serviront à édifier l'embryon est, dans le domaine de la Biologie, une question réellement générale et de très grande importance. Cela ne veut pas dire que l'accord soit le moins du monde complet sur l'opportunité de la généralisation des

résultats fournis par l'étude de l'œuf des Amphibiens anoures.

Les *Cténophores* ont donné, à ce sujet, des résultats vraiment remarquables. Les travaux de Chun (80-95), de Driesch et Morgan (95), de H.-E. Ziegler (98) avaient montré que l'œuf de ces organismes possède une localisation tellement précise des matériaux constitutifs de l'embryon, que l'isolement des blastomères ou les lésions détruisant une partie du protoplasme ovulaire amènent la formation d'embryons "partiels„ tout à fait typiques. Depuis, Fischel (96, 97, 03), dans de très belles recherches, a précisé tous ces points chez *Beroë*.

Encore plus remarquables, peut-être, sont les recherches sur l'œuf des *Mollusques* et tout particulièrement celles de Ed.-B. Wilson (04) sur *Dentalium* et sur *Patella*, qui constituent une démonstration décisive de l'importance primordiale de la constitution " plasmatique „ de l'œuf.

Chez *Ilyanassa*, étudié par Crampton (96), la localisation des matériaux de l'ovule est encore plus fixe que chez la grenouille, où on peut encore, ainsi que l'ont montré O. Schultze et Wetzel, la modifier par certaines manipulations. *Myzostoma* se comporterait de même, d'après Driesch (96).

Les intéressantes expériences de Stevens (09) sur *Ascaris* sont également à signaler ici.

Il résulte des travaux de Conklin (05, 06) que le développement des *Ascidies* est un travail de mosaïque tout à fait typique. Les observations et les expériences de cet auteur sur l'œuf de *Cynthia* l'ont amené à conclure que la répartition des matériaux y est tellement stricte, qu'on peut reconnaître, avant la segmentation, les parties destinées à chacun des principaux organes.

Chez tous ces organismes, la " localisation des tendances germinales „ apparaît comme une propriété primordiale et extrêmement importante de *l'œuf*. Chez *Rana* (mono et dispermique) et probablement chez les Mollusques, la fécondation modifie la structure de l'œuf et fixe définitivement sa symétrie bilatérale dans une certaine orientation. Si ce bouleversement produit par le spermatozoïde peut avoir, comme l'a montré Brachet (1910 b), une grande importance comme facteur de

variabilité de l'espèce, il n'en est pas moins vrai qu'il ne *crée* rien de neuf, n'apporte à l'œuf aucune potentialité nouvelle et se contente, après avoir exercé une action mécanique, d'ailleurs très intense, d'amener une répartition définitive des matériaux qui vont servir à édifier le corps de l'embryon.

Dans ces dernières années, cette notion que la potentialité de l'œuf est une propriété qu'il possède par lui-même, avant la fécondation, et qu'il acquiert au cours de sa maturité, s'est de plus en plus imposée. L'œuf de *Cerebratulus lacteus* ou de *C. marginatus* a permis à Wilson (03), à Yatsu (08), à Zeleny (04), de faire, chez les Némertiens, des expériences comparables à celles de Brachet (06) sur l'œuf de *Rana* et qui démontrent que les localisations germinales se fixent *progressivement* au cours de l'expulsion des globules polaires et deviennent définitives après la fécondation et pendant les deux premières divisions.

On comprend très bien, dès lors, qu'il puisse y avoir des degrés dans la valeur absolue de ces localisations : plus elles se fixent lentement, plus l'œuf garde longtemps un pouvoir régulateur complet. Peut-être est-ce là la véritable interprétation à donner aux recherches de Driesch (1900), de Boveri (01), de Morgan (94, 95, 03), etc., sur la potentialité des premiers blastomères de l'oeuf des Echinodermes. La question est encore discutée aujourd'hui, mais il faut reconnaître que les modifications qui suivent la fécondation dans l'œuf de *Strongylocentrotus* [1], et qui ont été étudiées par Boveri, semblent démontrer qu'ici aussi on se trouve devant une " stabilisation „ des potentialités de l'œuf. Cependant, la formation d'un anneau coloré ne doit pas être considérée comme un argument décisif; on sait, depuis les expériences réellement surprenantes de

[1] Un tout récent travail de Lams (1910) présente, à ce point de vue, un intérêt considérable : en étudiant les modifications apportées à l'œuf du Cobaye par les phénomènes de maturation et de fécondation, cet auteur constate un véritable renversement de la polarité ovulaire au moment où pénètre le spermatozoïde. Rien de pareil ne se produit chez les œufs non fécondés, où la polarité reste telle que l'ont fixée les phénomènes de maturation.

Morgan et Spooner (09), de Morgan (06), de Konopacka (08), de Conklin (1910), de Lillie (09), de Morgan et Lyon (07) que la structure *visible* d'un œuf peut être bouleversée par les actions les plus brutales et sa segmentation modifiée, sans que, cependant, le plan de symétrie bilatérale subisse la moindre modification.

Le fait que le bouleversement produit dans l'œuf de grenouille di-tri-ou polyspermique par les centrosomes spermatiques extrêmement actifs qui y pénètrent, n'altère en rien l'allure d'un processus qui, nous l'avons vu, évolue en même temps et aboutit à donner à l'œuf, quel qu'il soit, une symétrie bilatérale que rien de ce qui lui est essentiel ne pourrait distinguer de celle d'un œuf normal, ce fait doit, lui aussi, nous rendre prudents au sujet de la valeur des *structures visibles* dans une question aussi complexe que celle des causes internes du développement [1].

---

[1] M. Brachet a bien voulu me communiquer les résultats d'expériences faisant l'objet d'un travail actuellement sous presse et dont l'une des conclusions les plus importantes est la formation d'un croissant gris typique dans les œufs vierges de *Rana* piqués avec un fin stylet. Ce fait nous semble intéressant à rapprocher de ce que nous disions plus haut au sujet des œufs dispermiques : que la formation de leur plan de symétrie est sans aucun rapport avec la copulation des pronuclei.

IIIe PARTIE.

LE DÉVELOPPEMENT DES EMBRYONS PROVENANT D'OEUFS DI-ET TRISPERMIQUES.

CHAPITRE VII.

Formation des feuillets germinatifs et des organes axiaux de l'embryon. Embryons totaux et embryons « partiels ».

Nous avons laissé l'étude de l'allure générale du développement au moment où la segmentation de l'œuf a abouti à la formation d'une blastula typique. Dès l'âge de 24 heures environ, il suffit de retourner les blastulas et d'examiner leur hémisphère inférieur pour y découvrir les premières traces de l'invagination blastoporale, sous forme d'une mince ligne, un peu sinueuse, dont la forte pigmentation tranche vivement sur le pôle blanc. La fig. 70, pl. XI, représente ce stade chez un œuf dispermique, la fig. 71 chez un œuf trispermique.

Chaque fois qu'il a été possible de le faire, j'ai pu constater que cette première ébauche du blastopore apparaît dans la partie moyenne de ce qui reste, à ce stade, du croissant gris, qu'elle est identique à celle qui se présente, en même temps, chez les œufs normaux ; tout nous permet donc de lui donner le nom de " lèvre dorsale du blastopore „.

Rapidement on voit l'encoche blastoporale se propager et finir par entourer circulairement la partie blanche de l'œuf ; en même temps, déjà, l'ouverture du blastopore se réduit progressivement. Environ 50 à 55 heures après la fécondation, les œufs ont pris l'aspect que représente la fig. 72. C'est, on le voit, une gastrula absolument typique, avec un petit bouchon vitellin saillant hors du blastopore, avec deux replis médullaires déjà bien indiqués ; rien ne pourrait distinguer cette gastrula d'un œuf normal de même âge et pourtant il n'y a aucun doute,

je puis l'affirmer, quant à son origine (la fig. 72 représente un œuf trispermique ; la fig. 71 représente une gastrula dispermique, mais vue seulement par son pôle supérieur, pour montrer un groupe de grosses cellules où la segmentation s'est arrêtée).

Dans la fig. 74, qui représente un œuf trispermique âgé de 72 heures, nous sommes déjà en présence d'un petit embryon dont les organes axiaux sont ébauchés ; on voit la gouttière médullaire sur le point de se fermer par soudure de ses bords ; l'ébauche de l'encéphale est bien nette également et aussi, sur ses côtés, les deux renflements des premières crêtes ganglionnaires. C'est un embryon normal, tout au moins dans ce que ce stade a de plus essentiel et si on fait abstraction d'une légère asymétrie de la région céphalique, dont nous aurons, d'ailleurs, à nous occuper longuement plus loin.

Le point important à établir dès maintenant, c'est que ni la dispermie ni la trispermie ne modifient l'allure du développement pendant la période où se forment les feuillets germinatifs (gastrulation) et celle où l'embryon s'ébauche dans ses organes les plus essentiels.

L'étude des coupes nous conduira d'ailleurs au même résultat que celle des formes extérieures. Nous ne pouvons, évidemment, faire ici une étude détaillée des processus compliqués de la gastrulation ni entrer dans la discussion relative à l'origine des feuillets germinatifs [1] ; ce qui est important, pour le moment, c'est d'établir simplement les grandes lignes de ces stades du développement des œufs di-et trispermiques pour permettre de les comparer aux œufs normaux.

La blastula fig. 75, pl. XI, est âgée de 19 heures et provient d'un œuf trispermique ; la coupe verticale qui est représentée est la reconstitution d'une série de 110 coupes horizontales ; on remarquera ce même effondrement de la voûte de la cavité de segmentation, dont il a déjà été question et qui est un simple accident de la fixation et du passage de l'œuf dans l'alcool absolu. Le plancher de la cavité est formé de grosses

---

[1] V. l'Index bibliographique n° II.

cellules vitellines, polygonales, serrées les unes contre les autres. Entre le plancher et la voûte, s'étend, de chaque côté, une zone marginale caractéristique. où les cellules augmentent progressivement de volume de haut en bas. Enfin, à gauche sur la figure, la zone marginale présente déjà les traces les plus nettes du processus qui, chez les Amphibiens, marque le début de la gastrulation, et auquel Brachet (03) a donné le nom de " clivage gastruléen „. C'est, en effet, une fente qui se produit entre les cellules de la zone marginale et qui semble prolonger la voûte de la cavité de segmentation ; cette simple fente délimite déjà un feuillet externe et un feuillet interne, mais le blastopore qui, morphologiquement parlant, est le point de la gastrula où le feuillet externe se continue dans le feuillet interne, est encore ici à l'état virtuel. Du côté droit de la fig. 75, on ne voit encore rien de pareil : elle représente la moitié ventrale de l'oeuf, celle qui est opposée au croissant gris et où tous les phénomènes de l'ontogenèse sont, on le sait, en retard sur la moitié crâniale.

La fig. 45, pl. X, représente une gastrula en coupe sagittale; elle provient d'un oeuf dispermique et est âgée de 26 heures ; le blastopore est déjà devenu circulaire ; dans la moitié crâniale (à gauche), il donne accès à une cavité archentérique déjà assez importante et qui s'est formée par invagination, en refoulant le plancher de la cavité de segmentation qui se réduit considérablement. La voûte de l'archenteron est formée de petites cellules régulièrement serrées les unes contre les autres et sur plusieurs rangs, ce qui est une caractéristique des Amphibiens anoures. On remarque, à peu près au niveau de l'équateur, que le feuillet externe, l'ectoderme, présente un renflement très net : c'est la plaque médullaire primitive, première et très précoce ébauche de l'encéphale et des parties voisines de la moelle.

Dans la fig. 48, il s'agit d'un embryon trispermique âgé de 52 heures. Le bouchon vitellin est réduit à presque rien, comme, aussi, la cavité de segmentation, qui n'est plus qu'une simple fente. L'archenteron est devenu considérable ; sa voûte s'est considérablement allongée et rejoint presque la lèvre

ventrale du blastopore. Sur les coupes transversales (parallèles à l'équateur) dont la fig. 48 est une reconstitution, on voit déjà les replis médullaires, les premiers segments mésodermiques, etc.

Enfin, la fig. 82, pl. X, est simplement la coupe transversale du petit embryon représenté fig. 74, pl. XI, et âgé de 72 heures. Sa disposition est absolument normale et je puis m'abstenir de la décrire ; je n'insiste pas non plus, pour le moment, sur l'asymétrie de la gouttière médullaire.

La conclusion à tirer de cette rapide étude de quelques embryons, c'est que la dispermie et la trispermie sont impuissantes à modifier en quoi que ce soit les premières différenciations de l'œuf, la formation des feuillets germinatifs et celle des organes axiaux. De deux choses l'une : ou bien ces phénomènes ne se produisent pas et l'oeuf succombe, ou bien ils se produisent et, dans ce cas, même s'ils ne sont que partiels, ils sont exactement les mêmes que dans le développement normal.

Dans les cas que nous venons de voir, l'œuf tout entier a donné naissance à une gastrula, puis à un embryon et ni à l'une ni à l'autre de ces formes ne manque aucune partie ; tout se borne à une asymétrie plus ou moins nette. Évidemment, en cherchant bien, en examinant minutieusement toutes les cellules de ces embryons l'une après l'autre, on en trouverait qui contiendraient deux ou plusieurs noyaux ; on verrait par-ci par-là de petites masses nécrosées, à peine grosses comme les cellules normales qui les entourent : la fig. 45, pl. X, en est un exemple ; mais il est bien certain que cela ne peut avoir aucune influence sur la forme générale de la gastrula ou du petit embryon et qu'on est autorisé à dire que la totalité de l'œuf dispermique dont ils proviennent a participé à leur formation. Il n'en est pas toujours ainsi, nous allons le voir ; mais le simple fait qu'un développement " typique „ des œufs di- et trispermiques de *Rana* est possible est digne d'attirer l'attention.

Dans son étude des œufs polyspermiques, Brachet (1910 b) a également été amené à cette conclusion que, dans certaines conditions favorables et dues seulement aux hasards des phénomènes de régulation, la polyfécondation, si, toutefois, elle ne

dépasse pas une certaine limite, est compatible avec la manifestation intégrale des potentialités que contient normalement l'œuf de *Rana fusca*.

C'est là, d'ailleurs, un fait qui n'est pas propre à cet organisme et O. et R. Hertwig (87), Fol (83), Th. Boveri (07), etc., ont eux aussi, et surtout ce dernier, insisté sur la possibilité d'un développement " typique „ des œufs polyspermiques et surtout dispermiques d'Echinodermes. Mais Boveri a donné de ce fait une explication qui a sans doute une grande valeur pour les œufs d'oursin, mais qui ne peut s'appliquer à l'œuf di- ou tri- ou polyspermique (Brachet) de *Rana*. Nous aurons à y revenir.

A côté des gastrulas et embryons " typiques „ que l'on voit se former dans les cultures di- et trispermiques, il en apparaît un bon nombre qui, manifestement, sont très anormaux, ou, si l'on veut, pathologiques. Leur intérêt est considérable et nécessite une étude spéciale.

Si l'on s'en tient aux formes extérieures, aucune indication précise, le plus souvent, ne peut être retirée au sujet de la signification de ces anomalies. Ce sont de volumineuses masses blanchâtres ou grisâtres, parsemées de nuages de pigment, de vacuoles, qui occupent tantôt une moitié de l'œuf, tantôt le recouvrent presque complètement ; il est même impossible, dans ce cas, de préjuger du stade auquel on se trouve dans le développement, autrement que par l'âge de la culture et l'aspect des œufs à évolution typique. Je n'ai pas représenté de figures d'ensemble de gastrula présentant cet aspect, car l'intérêt de ces anomalies lorsqu'on ne pénètre pas leur structure intime et leurs conséquences, réside purement et simplement dans leur variété, de sorte qu'il serait nécessaire, pour en donner une idée, d'en représenter toute une série. Par contre, la figure 73 pl. XI, représente un petit embryon trispermique de 72 heures, provenant de la même culture que celui de la fig. 74 et qui est intéressant par la netteté de la localisation d'une masse nécrosée à sa partie antérieure et droite ; un simple examen de cette figure montre un fait important, c'est que la présence de cette masse nécrosée est liée à l'absence totale de toute la partie correspondante de l'encéphale et

des premières crêtes ganglionnaires : nous sommes donc bien en présence d'un embryon à qui il manque quelque chose, d'un embryon " partiel ", absolument normal dans toutes ses autres parties. On trouve fréquemment des formes semblables et, lorsque la masse nécrosée ne masque pas complètement la structure de la partie vivante, ces embryons sont fort intéressants parce que, toujours, il leur manque quelque chose, tantôt un quart, tantôt un tiers ou plus du corps.

Tout cela va être considérablement précisé par l'étude des coupes.

La fig. 50, pl. X, représente une coupe sagittale de la blastula dispermique âgée de 20 heures, dont la fig. 68, pl. XI, représentait l'aspect extérieur. On voit que la structure interne répond à celui-ci : la partie segmentée ne représente pas la moitié de l'œuf ; elle semble, d'ailleurs, normale et formée d'un grand nombre de petites cellules formant en partie la voûte de la cavité de segmentation, puis de cellules plus grosses, indiquant très nettement une zône marginale typique et, enfin, de volumineuses cellules vitellines. J'insiste sur le caractère normal de cette zône segmentée et sur la répartition des cellules par ordre croissant de volumes, en allant du pôle supérieur vers le pôle inférieur. Tout le reste de la masse de l'œuf constitue un vaste syncytium, avec les caractères particuliers de ces formations ; je n'y reviens pas. L'intérêt de cette blastula, au point de vue où nous nous plaçons ici, réside dans la présence d'une cavité de segmentation dont plus de la moitié, environ, est creusée, très probablement par liquéfaction (v. chap. V), dans la masse insegmentée. En examinant toute la série des coupes verticales faites dans cette blastula, j'ai pu m'assurer que la plus grande partie du plancher de cette cavité et la moitié de la zône marginale qui relie ce plancher à la voûte sont formés exclusivement par ce syncytium. Un clivage particulier, une invagination archentérique seraient-ils possibles dans ces conditions ? Je crois qu'on peut répondre négativement : ces deux phénomènes ne peuvent pas se concevoir sans des déplacements de cellules ; or, ici, dans toute une vaste partie de la région où ces déplacements de-

vraient se produire, il n'y a aucune cellule, il n'y a qu'un vaste syncytium déjà en voie de dégénérescence. En aucun cas je n'ai pu voir, dans des blastulas de ce genre, que ce syncytium présentât la moindre trace d'une tendance à former une invagination quelconque. La fig. 46 représente, par exemple, une blastula trispermique de 24 heures : or il est manifeste que si aucune trace de blastopore n'apparaît encore, c'est parce que la région blastoporale est occupée par une vaste masse en voie de nécrose : à ce même âge,plusieurs œufs de la même culture gastrulaient depuis quelque temps déjà et l'un d'eux est représenté en entier fig. 70, pl. XI.

Examinons au contraire la très intéressante gastrula que représente la fig. 47, pl. X. Elle provient d'un œuf trispermique et est âgée de 42 heures. Ici aussi la masse nécrosée est considérable et, cependant, l'archenteron s'est complètement formé et sa voûte semble normale : toute la région antérieure du blastopore est bien constituée. Je n'insiste pas ici sur la disposition bizarre de la cavité de segmentation, qui s'ouvre au dehors sous la masse nécrosée, ni de l'aspect de celle-ci : ces points seront examinés plus loin. Pour le moment je ferai seulement remarquer qu'il n'y a trace nulle part de la lèvre ventrale (caudale) du blastopore.

Enfin voyons le petit embryon que représente la fig. 48 Il est trispermique et âgé de 52 heures : il est absolument normal dans sa structure ; on pourrait le prendre pour modèle d'une description de développement typique et pourtant, en y regardant de près, on voit que tout le centre de la masse vitelline est occupé par une volumineuse masse nécrosée. Mais ni l'invagination archentérique ni aucune des transformations essentielles que subit une gastrula pour devenir un embryon n'a souffert de la présence de cette région en dégénérescence : la position de celle-ci suffit à l'expliquer.

Il y a donc une conclusion à tirer de ces faits : *suivant l'endroit de l'œuf où se trouve la masse insegmentée et en voie de nécrose, la gastrulation pourra se faire ou sera impossible.* Nous avons ici un premier exemple d'un phénomène nouveau dans l'histoire des œufs di- ou trispermiques : l'influence d'une

zone insegmentée sur le développement, suivant son importance et surtout suivant sa position. On voit ici que cette influence peut être la suppression pure et simple d'un processus qui, de tous, est peut être le plus indispensable du développement : un œuf qui ne peut pas gastruler est voué à une mort prochaine. Et c'est ce qui arrive ici : la gastrulation constitue pour les œufs di- et trispermiques et aussi pour les polyspermiques, comme l'a montré Brachet, *le stade critique* par excellence ; au moment où elle débute, toutes les notes d'expérience mentionnent un nombre considérable d'œufs qui meurent ; souvent la moitié des cultures succombe, même pour les œufs seulement di- ou trispermiques.

Nous savons pourquoi ces œufs meurent. Mais pourquoi y en a-t-il *tant* qui meurent ? Cela peut facilement s'expliquer : c'est dans l'hémisphère inférieur de l'œuf que se passent les phénomènes de la gastrulation ; or, c'est précisement là qu'il y a le plus de chances de trouver des parties insegmentées ; nous avons vu l'origine de celles-ci et les différentes causes qui peuvent amener l'arrêt de la segmentation ; parmi toutes ces causes, la plus importante est évidemment la diminution de la sensibilité du protoplasme à l'influence qui tend à amener sa division et qui émane du noyau en mitose ; plus le protoplasme est encombré de deutoplasme, plus il tarde à suivre la division du noyau : c'est simplement la loi de Balfour, mais elle explique que les "accidents„ du réglage, les "accidents„ de la segmentation soient plus fréquents dans l'hémisphère inférieur de l'œuf. Si on se rappelle toutes les circonstances de la formation et de l'évolution des parties insegmentées, on voit combien la polyspermie entre pour peu de chose, directement tout au moins, dans la mort précoce de près de la moitié des œufs : ceux-ci succombent parce que, par hasard, l'une de leurs premières cellules avait pris une forme défavorable à une segmentation complète ; le seul rôle de la polyspermie est d'avoir amené deux noyaux dans cette cellule ; mais cela n'a rien à voir avec la forme qu'elle avait et, je le répète, c'est de cette forme que peut dépendre la vie

de l'œuf. De même, c'est tout aussi bien par un pur effet du hasard que telle autre gastrula paraît entièrement normale et formée de cellules mononucléées, ou que telle autre évolue parfaitement malgré la présence d'une masse insegmentée que sa position seule suffit à rendre inoffensive.

J'ai insisté à plusieurs reprises, dans ce qui précède, sur l'aspect normal de toutes les parties d'une blastula ou d'une gastrula en dehors de la région insegmentée. Pour préciser ce qu'il faut entendre par là, nous dirons que *dans toute région d'un œuf di- ou trispermique où un arrêt de segmentation ne s'y oppose pas, on retrouve les mêmes phénomènes du développement, avec leur même importance et se succédant dans le même ordre, que dans la région correspondante d'un œuf normal.* Lorsque le blastopore peut se former, il est à sa place et a des caractères normaux ; lorsque l'archenteron peut s'invaginer, il reste normal tant qu'il ne rencontre aucun obstacle dans son trajet dans la profondeur de l'œuf. En d'autres termes, ce que celui-ci peut donner dans une région déterminée ne dépend que de la " potentialité „ qu'il y possède et ne dépend pas du tout de l'évolution ou de la nécrose des parties voisines. Il n'y a pas de phénomènes régulateurs : si le blastopore ne peut pas se former à sa place normale, il ne se formera pas du tout ; aucune autre région de l'œuf, si saine soit-elle, ne manifestera la moindre tendance à former ce qui serait un blastopore " secondaire „.

Cette notion que l'œuf donne soit un embryon complet, s'il se divise complètement, soit un embryon " partiel „ s'il ne se divise pas complètement, l'étude de quelques exemples particulièrement démonstratifs à ce point de vue va encore la préciser davantage.

La fig. 95, pl. XII, représente une coupe transversale passant à peu près par la partie médiane du petit embryon trispermique âgé de 72 heures, qui est représenté en entier, fig. 73, pl. XI, et dont l'aspect extérieur nous a déjà nettement donné l'impression d'un embryon " partiel „. La structure interne répond exactement à ce qu'on pouvait attendre : toute la partie ventrale, toute la moitié gauche du dos et une portion

de la partie droite sont absolument normales et tous les organes sont présents, avec leurs caractères normaux. Dans la partie qui correspond à la masse nécrosée blanchâtre qu'on voyait si bien extérieurement, on retrouve la même formation, déjà en pleine nécrose et remplie de vacuoles. En dehors de cette partie morte, on voit des choses très curieuses : ainsi, bien qu'assez éloignée, la moitié droite de la moelle épinière manque, comme, également, une région considérable des somites du côté droit ; on remarque aussi que l'épiderme recouvre la masse nécrosée sous forme d'une mince membrane un peu plissée. Il y a cependant quelque chose à la place des parties manquantes, mais ce n'est ni du tissu nerveux, ni du tissu normal de myotomes : c'est du tissu conjonctif banal, sans aucune différenciation.

Voyons maintenant la fig. 44, pl. X, qui représente la coupe transversale d'un œuf dispermique âgé de 74 heures, passant par la partie antérieure du tronc, un peu en dessous de l'ébauche de l'encéphale. Il faut un examen attentif pour reconnaître un embryon dans cette masse, en apparence informe et, en effet, nous ne voyons plus ici qu'une petite partie de cet embryon, un tiers à peine. Cependant on reconnaît, à gauche, la moitié ou à peu près du système nerveux central ; en dessous de lui, une corde dorsale rudimentaire et quelques traces de mésoderme ; immédiatement en dessous, un tube digestif très petit et dont il manque toute une moitié. Toute cette partie d'embryon est appliquée contre une énorme masse nécrosée, remplie de vacuoles contenant des moisissures et où plus aucune structure ne se montre ; de l'autre côté, un épiderme normal recouvre ce qui reste d'organes et forme même, détail intéressant, une belle ébauche d'appareil fixateur, mais d'un côté seulement ; puis cet épiderme s'amincit, se chiffonne et recouvre une certaine partie de la masse nécrosée.

Il est inutile de multiplier les exemples : ces deux embryons démontrent que, lorsque la di-ou la trispermie est liée à des hasards malheureux au cours de la segmentation, ce qui se forme c'est *un embryon partiel, à qui il manque tout ce que contenait la partie de l'œuf qui a cessé de se segmenter et qui a*

dégénéré. Lorsqu'on peut, comme c'est le cas ici, évaluer exactement les limites de la région nécrosée et qu'on connaît son mode de formation, on est amené à considérer la polyspermie expérimentale comme un moyen d'étude de la potentialité de l'œuf, de la fixité de la répartition qu'y présentent les matériaux constitutifs de l'embryon, aussi précieux et aussi démonstratif que la destruction par piqûre de l'un des premiers blastomères.

La perturbation que peut amener la pénétration de deux ou de trois spermatozoïdes dans l'œuf n'a aucune influence sur sa " prospektive Bedeutung „ comme dit Driesch, ni même, lorsque l'œuf est livré à lui-même, sur sa " prospektive Potenz „. La pénétration de 5, de 10 spermatozoïdes n'agit pas davantage : Brachet (1910*b*) obtient des embryons partiels, provenant d'œufs polyspermiques, qui sont absolument pareils aux di-ou trispermiques et il a été obligé d'arriver à la conclusion, qu'ici encore, la polyspermie réalise des conditions déjà observées à la suite d'expériences d'une tout autre nature.

Il nous reste, pour terminer ce chapitre, à examiner quelques points laissés de côté dans ce qui précède.

Reprenons l'étude de cette gastrula si caractéristique dont la fig. 47, pl. X, donne l'image. Nous avons déjà vu que ce qui lui reste de la cavité de segmentation s'ouvre au dehors sous la masse nécrosée qui recouvre la plus grande partie de l'œuf et a la forme d'un croissant. Il n'y a qu'un moyen d'expliquer l'origine de cette ouverture : une partie de la voûte de la cavité de segmentation a été éliminée et, ici, il s'agit certainement de la masse nécrosée; mais la disposition de cette masse et celle de la voûte de la cavité indiquent clairement qu'il s'est passé quelque chose de plus : une croissance secondaire de cette voûte formée de petites cellules ; ce que nous voyons ici est une cicatrisation, simplement par prolifération de la partie segmentée, qui se glisse sous la partie de l'œuf qui sera éliminée. Si ce fait ne s'était pas produit, nous aurions la communication de la cavité de segmentation avec le dehors par une brêche de toute la largeur de la partie nécrosée ; elle est ici réduite à un petit pertuis.

La fig. 39, pl. IX, représente une coupe horizontale passant précisément par cette petite ouverture ; l'état des bords qui la délimitent démontre bien, lui aussi, que ce n'est pas un simple trou, une déchirure, mais bien le dernier stade d'une cicatrisation qui eût été bientôt complète : ces bords sont de véritables bourrelets de croissance, avec intense prolifération des cellules, dont beaucoup sont en mitose. Par l'ouverture on peut voir sortir une masse de grosses cellules vitellines qui rejoignent la partie morte ; mais elles ne se continuent pas avec elle : une ligne bien nette les sépare. Comme c'est encore le seul lien qui attache la masse nécrosée au restant de l'œuf, dès que cette limite aurait été bien établie, entre la partie vivante et la partie morte, celle-ci se serait détachée d'elle même et il est extrêmement probable que le petit pertuis faisant communiquer la cavité de segmentation avec le dehors, se serait rapidement fermé par la soudure de ses bords. Nous voyons donc qu'en même temps que l'œuf se cicatrise, il se sépare de la partie nécrosée par un processus actif d'élimination, " eine Art Autotomie „ comme dit (p. 312) Godlewski (08) qui a observé chez l'oursin un phénomène analogue, dans certains cas de développement pathologique.

Nous avons déjà examiné la structure de cette portion nécrosée, chez cette gastrula, et nous y avons trouvé de nombreuses petites cellules, isolées ou par groupes ; je n'y reviens pas.

Dans la fig. 95 on peut voir que les choses se sont passées un peu différemment ; la cicatrisation, qui est ici complète, a amené une véritable inclusion de la partie morte à l'intérieur des tissus et l'épiderme de néoformation la recouvre complètement. J'attire l'attention sur la structure et l'aspect de cet épiderme, qui est plissé, fortement pigmenté et qui vient, des deux côtés, se rattacher à l'ectoderme propre de l'embryon. J'ai dit déjà qu'il manquait à cet embryon la moitié droite du système nerveux central et une partie des somites du côté droit et que du tissu conjonctif banal remplaçait ces deux tissus hautement différenciés.

Je pense que c'est là un fait intéressant : ce tissu conjonctif

est un tissu cicatriciel typique, mais il se contente de remplir les vides laissés par la nécrose d'une partie de l'œuf qui contenait les matériaux nécessaires pour la formation de la partie droite de la moelle et de la partie absente des myotomes du côté droit ; mais il ne remplace pas ces organes.

L'enclavement des parties nécrosées est un phénomène assez fréquent, dont nous retrouverons des exemples chez les embryons plus âgés. Mais, le plus souvent, ces parties sont éliminées soit directement au dehors, comme dans la fig. 52, et alors on les retrouve dans la gangue gélatineuse à côté de l'embryon, ou bien, lorsqu'elles siègent, par exemple, dans la masse des cellules vitellines, elles finissent par tomber dans la cavité de l'archenteron, où nous en retrouverons des traces jusqu'à des stades très avancés.

Mais il va de soi que lorsque les phénomènes de dégénérescence et de nécrose prennent l'importance qu'ils ont dans l'embryon dont la fig. 44 représente une coupe, celui-ci ne peut continuer bien longtemps à vivre. Encore une fois, sa mort sera une mort banale, nullement due à la polyspermie, mais simplement à des accidents produits par le hasard de la disposition de ses premières cellules ; mais si on avait obtenu, par tout autre procédé, la présence simultanée, chez un œuf normal, de deux mitoses dans ses premiers blastomères et notamment par quelqu'une des innombrables expériences de Demoor (94), de Loeb (92, 96), de Teichmann, (03), de Godlewski (08), de Wilson (01) etc., il n'y a aucun doute que ces mêmes " accidents „ eussent pu se produire et eussent eu la même conséquence déplorable.

Il y a des altérations *spécifiques* de la polyspermie ; nous verrons qu'elles amènent aussi la mort de l'embryon ; mais elles ne se manifestent que plus tard et nous les étudierons plus loin.

Tous ces phénomènes de cicatrisation et d'élimination, Brachet les décrit également à propos des œufs polyspermiques de *Rana*. Ils y sont exactement semblables et, pas plus qu'ici, ni eux ni les malformations des embryons partiels ne peuvent être tenus pour spécifiques de la polyspermie. *Mais il était*

nécessaire de démontrer que celle-ci ne produit pas que des troubles dans le processus intime de la fécondation, ne se borne pas à amener, dans un même embryon, la présence de monocaryons purement spermatiques et ne contenant que le nombre réduit de chromosomes et d'amphicaryons normaux ; elle amène, d'une façon tout indirecte, les perturbations les plus graves, mais aussi les plus banales, dans la segmentation des œufs et une grande partie, la moitié au moins, des morts prématurées dans les cultures polyspermiques doit se rapporter à de simples conséquences des lois les plus générales de la mécanique cellulaire.

Cette constatation qui est, en dernière analyse, la conclusion de tout ce que nous avons étudié jusqu'ici de l'évolution des œufs di- et trispermiques depuis leur première segmentation, doit attirer notre attention au point de vue des *causes* du développement pathologique de ces œufs. Elle est à retenir parce que, dans les conclusions générales, nous aurons à discuter ces causes, telles qu'elles ressortent de l'étude de la polyspermie expérimentale chez *Rana* et chez les Echinodermes.

Quand aux faits relatifs à la formation d'embryons partiels et à leur interprétation au point de vue de la localisation des matériaux ovulaires, ils donnent évidemment lieu à une longue discussion et à un exposé bibliographique important. Mais cette question a déjà été traitée, dans ses points essentiels, lorsque nous avons abordé le problème de la symétrie bilatérale de l'œuf. J'y renverrai donc le lecteur et je ne puis que faire remarquer que l'existence même de ces embryons partiels, a, comme nous l'avons vu, la valeur d'expériences de destruction d'une partie de l'œuf et doit s'interpréter de la même façon.

CHAPITRE VIII.

Etude des embryons de 3 à 93 jours.

I. Partie descriptive.

Les 32 embryons qui serviront à cette étude s'échelonnent sur les différents stades compris entre la formation des organes

axiaux et l'extrême limite atteinte par une larve dispermique. Le matériel est, cela se comprend, beaucoup plus abondant pour les stades de 3 à 8 ou 10 jours que pour les embryons de 20 ou 30 jours et plus. Dans la description qui va en être faite, nous ne nous occuperons que de quelques exemples choisis comme particulièrement intéressants pour le but que nous poursuivons et qui est, uniquement, l'influence de la dispermie ou de la trispermie sur le développement ; nous ne pouvons pas, évidemment, nous attarder à décrire en détail chaque embryon et examiner la formation de tous ses organes. Ainsi que nous l'avons toujours fait jusqu'à présent, nous commencerons par une rapide étude des formes extérieures et je dirai quelques mots, également, de la physiologie des embryons polyspermiques. Cet examen nous posera une série de questions dont l'étude détaillée de la structure interne pourra seule nous donner la solution.

La figure 33, pl. IX, représente un embryon dispermique âgé de 5 jours. Ce qui frappe immédiatement dans son aspect, c'est une dilatation considérable de l'abdomen qui est transformé en une grosse vésicule remplie de gaz et à paroi transparente. Cette anomalie, qui paraît inexplicable, s'est montrée très fréquemment dans les cultures. On la voit persister quelque temps puis, si l'embryon reste en vie, les parois deviennent flasques, ridées et toute trace de cette dilatation gazeuse peut disparaître. Mais elle paraît gêner considérablement l'embryon et peut, quelquefois, le paralyser et le maintenir le ventre en l'air à la surface de l'eau. Dans les premiers jours cela n'a aucune conséquence fâcheuse mais, plus tard, cette immobilisation ne permet pas à l'embryon de se nourrir et entraîne finalement sa mort. L'examen des coupes montre que cette dilatation est péri-intestinale mais ne donne aucune indication sur son origine.

Les autres parties de cet embryon dispermique sont normales ; les appareils de fixation sont bien formés, les narines indiquées ; le volume de la tête paraît normal ; deux petites branchies externes sont déjà assez développées. Il n'y a rien de particulier du côté du dos, si ce n'est une légère asymétrie.

La queue est évidemment trop petite et, surtout, a une direction anormale.

Dans la fig. 38, pl. IX, il s'agit d'un embryon trispermique âgé de 10 jours. Les branchies sont en voie de régression, la bouche est déjà pourvue d'un bec corné, les deux ventouses de fixation sont bien développées. La seule anomalie visible extérieurement est la présence, sur le ventre, d'une plaque blanche, arrondie, dont l'aspect rappelle celui d'un bouchon vitellin de gastrula. En réalité, il s'agit là d'une petite masse nécrosée qui est sur le point d'être éliminée. Les notes d'expériences mentionnent que cet embryon était parfaitement vivant au moment de sa fixation ; il se remuait et était capable de se nourrir ; ses mouvements étaient cependant plus lents et surtout moins spontanés que ceux des témoins normaux de même âge ; c'est là, d'ailleurs, une propriété presque générale de tous les embryons di- ou trispermiques : ils sont paresseux et ne remuent que si on les touche ou si on déplace le vase qui les contient. On remarquera que la partie postérieure du corps de cet embryon, la région anale et la queue, paraissent absolument normales.

La fig. 35, pl. IX, représente au contraire un embryon fortement anormal ; il est dispermique et âgé de 10 jours également. Si on le compare à celui que nous venons d'examiner [1], on constate qu'il est à la fois plus avancé et plus en retard dans son développement : il est encore presque globuleux et sa queue est courte, son ventre énorme, mais ses branchies sont déjà cachées sous l'opercule, sa bouche est arrondie, ses ventouses en régression. Le dessin ne permet pas de voir les yeux, qui sont complètement formés. Ce qui frappe ensuite dans son aspect, c'est une forte asymétrie, avec un développement plus grand de la moitié gauche du corps. Dans la queue, qui est beaucoup trop courte, la moitié droite est tellement moins développée qu'il en est résulté une véritable courbure de cet organe. Enfin, les notes d'expériences mentionnent que cet em-

---

[1] Toutes ces figures sont à la même échelle : 10/1 (sauf la fig. 34; v. plus loin).

bryon restait immobile au fond du cristallisoir ; puis, dès qu'on le touchait avec une baguette de verre, il tournoyait rapidement sur lui-même, sans parvenir à se déplacer, et toujours dans le même sens. A l'état de repos, il était, de même, toujours enroulé à moitié sur le côté droit.

Le beau têtard que représente la fig. 37 pl. IX, est dispermique également et âgé de 14 jours. Dans l'ensemble de son aspect extérieur, il est absolument normal et très bien proportionné. La bouche est garnie d'une couronne de petites dents cornées ; les yeux, à fleur de peau, sont absolument normaux et pourvus d'un beau cristallin ; les ventouses achèvent de disparaître, les branchies sont tout à fait cachées sous l'opercule : celui-ci s'est complètement soudé et ne subsiste que sous forme d'un petit canal ou spiracle qui, comme c'est la règle chez *Rana*, s'ouvre du côté gauche et n'est pas visible sur le dessin. La région abdominale est intéressante ; on y voit d'abord de nombreuses rides : ce sont les traces d'une grosse vésicule, comme celle de la fig. 33, pl. IX, qui s'est affaissée et a disparu dans la suite du développement ; mais en dessous, il y a une anomalie plus curieuse : un véritable anus, ouvert au milieu de la paroi ventrale de l'abdomen et qui, on le voit, est fonctionnel. Cela n'empêche pas, d'ailleurs, un second anus d'exister un peu plus loin à sa place habituelle. En réalité, il suffirait de voir la face ventrale de cet embryon pour s'en assurer, l'intestin est soudé à l'ectoderme sur toute la distance entre ces deux ouvertures, qui sont simplement la suite d'une anomalie quelconque, produite lors de la fermeture du blastopore de la gastrula et qui aura amené la malformation de la région anale.

La queue de cet embryon est absolument normale, pourvue d'une large nageoire et on y voit très nettement la succession des somites mésodermiques. La vitalité de cet embryon, au moment de sa fixation, était très grande ; il nageait parfaitement, mais toujours avec une tendance à ne pas se mouvoir spontanément ; il se nourrissait déjà de rotifères, de diatomées

et de petits crustacés, dont nous retrouverons les carapaces dans son intestin, et aussi de spirogyres [1].

Je ne décrirai pas ici les embryons de 15, 20 ou 30 jours, car ce serait prolonger inutilement ce chapitre ; ils sont d'ailleurs surtout intéressants au point de vue de leur structure interne.

L'embryon trispermique de 54 jours que j'ai obtenu en 1909, n'a pas été représenté en entier ; il avait d'ailleurs l'aspect extérieur d'un têtard normal de même âge, mais beaucoup plus petit. Il vivait encore au moment de sa fixation, mais paraissait devenir malade. Jusqu'à ce moment, il nageait assez bien, mais avec une rapidité de mouvements tout à fait anormale ; ce qui était le plus caractéristique dans sa manière de se comporter, c'était la cessation brusque de tout mouvement au cours de ses déplacements ; puis on le voyait se coucher sur le côté gauche et retomber dans cette position au fond du cristallisoir ; lorsqu'il était au repos, c'est toujours ainsi qu'il se tenait. Son œil droit paraissait complètement atrophié ; sa queue était notablement trop courte et un peu déviée vers la droite mais, *extérieurement*, il paraissait presque symétrique dans sa forme générale.

---

[1] A propos de spirogyres, il a été permis de faire une observation assez curieuse. Un jour de grand soleil, on vit les têtards en expérience remonter à la surface de l'eau et y rester immobiles, le ventre en l'air et distendu par une énorme bulle de gaz. Rien de pareil ne se produisit dans un grand aquarium placé à l'abri des rayons solaires et où se trouvaient des milliers de têtards. Voici ce qui s'était passé : ces larves sont très avides des filaments de *Spirogyra*, dont elles avalent de longs morceaux ; mais pendant tout un temps, ces algues continuent à vivre dans leur tube digestif, où on peut les voir par transparence ; elles y restent vertes et ne portent, pendant quelques heures, aucune trace d'altération quelconque. Lorsque le soleil les frappe, elles continuent à assimiler du carbone et à rejeter de l'oxygène et c'est celui-ci qui, en s'accumulant, finit par produire une grosse bulle de gaz qui entraîne les têtards à la surface de l'eau. Nombre d'entr'eux ont succombé à la suite de ce singulier accident ! Il est intéressant en tous cas, de noter combien la protection contre la lumière par la pigmentation du corps s'est montrée ici inefficace, car, tant que les têtards étaient bien portants, ils nageaient le ventre en bas et les rayons solaires devaient donc traverser entièrement leur corps avant d'arriver à l'intestin où se trouvaient les algues. Remarque importante, les têtards normaux, qui servaient de témoins et étaient dans les mêmes conditions, se sont comportés de même.

Enfin, la fig. 34, pl. IX, représente le têtard le plus âgé que j'aie pu obtenir en 1910 ; il provient d'un œuf qui s'étant segmenté en deux, puis en six, était donc dispermique. Au moment de sa fixation, il était mort depuis peu de temps et encore en assez bon état : il avait à ce moment *93 jours*. Le dessin qui le représente est à une échelle plus petite de moitié que celle qui a servi aux autres figures : il faut donc se le représenter deux fois plus grand, si on veut le comparer à celles-ci. Le premier point qui doit attirer notre attention, c'est que, bien qu'âgé de trois mois, c'est *un têtard*, sans aucune trace, visible extérieurement, des membres postérieurs, ni d'aucun indice d'une métamorphose prochaine. Or, à ce moment, tous les embryons normaux témoins étaient devenus, depuis plus de 15 jours, de petites grenouilles complètement transformées. La queue est bien un peu raccourcie, mais, nous l'avons vu, les têtards di-ou trispermiques ont très souvent des malformations de cet organe.

Si on regarde de plus près l'aspect extérieur de ce têtard, on sera frappé d'une différence manifeste, quoique difficile à préciser, entre sa partie antérieure et sa partie postérieure ; outre une différence de coloration, la tête est une tête de petite grenouille, avec sa forme triangulaire caractéristique et sa pigmentation moindre ; le corps, encore tout noir, est un corps de têtard. Pour le reste, il y a simplement à noter que la taille est plus petite de moitié que celle qu'avaient les témoins normaux au moment de leur métamorphose, et que le corps est légèrement asymétrique et un peu boursouflé.

Jusque dans ses derniers jours, ce têtard était très vivant, nageait de façon normale avec, peut-être, des mouvements un peu trop précipités de la nageoire caudale, ce qui se conçoit étant donné que celle-ci est trop petite. Il se mettait parfois spontanément en mouvement, parcourant toute la périphérie du cristallisoir avec grande vitesse ; il se livrait à de véritables chasses dans les paquets d'algues et sous la vase de son aquarium ; enfin, depuis plus d'un mois, il se nourrissait de débris de têtards sacrifiés ou de morceaux de grenouille qu'on le voyait dévorer avec avidité. J'ai pu m'assurer qu'il réagissait immédiatement aux moindres différences d'éclairement.

Nous aurons à discuter, tantôt, les causes de la mort des têtards di- et trispermiques, et nous verrons qu'il faut la considérer comme fatale après un certain temps, d'ailleurs très variable. Le têtard de 54 jours nous donnera, à l'étude microscopique, la preuve qu'il était arrivé à la limite de vie possible avec sa constitution. Je ne suis pas certain qu'il en soit de même ici : ce têtard a été trouvé mort après une journée de grande chaleur et de soleil. Or, malgré toutes les précautions, on voyait toujours la température de l'eau atteindre alors 25° et souvent plus, de sorte que je suis porté à croire que cette chaleur a hâté sa mort.

On voit, par cet exposé, que les embryons di- et trispermiques de *Rana fusca* peuvent, en somme, atteindre un âge très avancé, où tous les organes sont différenciés. Ils présentent certainement de nombreuses anomalies, mais il n'est pas, cependant, un seul de ces organes qui ne se forme de la même manière que dans l'œuf normal. Il n'est pas question de " monstres doubles ".

Bien que la mortalité des œufs polyspermiques soit beaucoup plus considérable chez eux, Brachet (1910 *b*) a pu garder en vie pendant 9 jours un embryon provenant d'un oeuf au moins pentaspermique et il relate plusieurs cas de survie de 3 à 5 jours.

Nous allons passer maintenant à l'étude détaillée de leur structure interne. Cependant, ici non plus, je ne puis faire une description complète de chaque embryon; j'ai choisi les plus intéressants et encore me bornerai-je à décrire ce qui, chez eux, est le plus saillant, de telle sorte que les organes dont il ne sera pas question dans les descriptions doivent être considérés comme normaux.

La fig. 84, pl. XII, est la coupe transversale d'un embryon trispermique de 79 heures ; c'est le stade qui suit immédiatement celui où nous avons assisté à la formation définitive des principaux organes axiaux. Ici, la gouttière s'est fermée par soudure de ses bords et le " tube nerveux " ainsi formé est déjà recouvert par l'épiderme. Le point le plus important à noter est l'asymétrie assez prononcée du système nerveux, dont

la partie gauche est plus développée (la figure représente la coupe telle qu'on la voit au microscope ; c'est donc la partie droite qui est ici la plus grande ; il faudra se souvenir de ce détail : toujours, dans le texte, lorsqu'il sera question de droite ou de gauche, c'est toujours de l'embryon et non de la figure qu'il s'agira, à moins d'indication spéciale). Cet embryon présentait, en outre, des irrégularités, des plissements au niveau du canal neurentérique.

Enfin, les noyaux de la partie gauche du corps sont tous plus grands que les noyaux de la partie droite. Il n'est pas douteux que les uns sont des amphicaryons, les autres des monocaryons, mais tous les détails relatifs à ce point seront traités plus loin.

La fig. 85 est l'image d'une coupe transversale provenant de la partie moyenne du tronc d'un embryon trispermique de 92 heures et déjà hautement différencié dans ses principaux organes : ventouses, avec magnifiques cellules cylindriques, yeux, vésicules auditives et placodes ectodermiques, crêtes ganglionnaires, coeur et péricarde, ébauche hépatique, cavité buccale, etc. Deux particularités le rendent intéressant : son asymétrie, que nous n'étudierons pas ici, et la présence d'une bande de grosses cellules, isolées ou par petits groupes, qui s'étend d'une extrémité à l'autre du corps et se trouve comprise, à la partie gauche et dorsale de l'embryon, entre l'ectoderme qui la recouvre et, d'autre part, le tube médullaire et les myotomes avec lesquels elle n'a aucun rapport visible. Les fig. 40 et 41, pl. IX, représentent deux aspects caractéristiques de ces grosses cellules ; leur protoplasme est surchargé de plaquettes vitellines et présente, par places, des accumulations de pigment ; dans la plupart de ces cellules, mais pas dans toutes, on voit, au centre, un gros noyau bourgeonnant, manifestement en caryolyse, d'où partent radiairement des traînées pigmentaires, simulant une irradiation d'origine centrosomiale. Aucune de ces cellules n'a montré la moindre trace d'une mitose quelconque, simple ou polycentrique, ni d'un indice quelconque de leur division. Il s'agit évidemment de cellules dont la segmentation s'est arrêtée à un stade que, d'après leur grosseur, on peut définir approximativement comme

une blastula jeune : actuellement elles sont en voie de nécrose complète ; tout cela n'a rien d'extraordinaire et concorde avec l'évolution des arrêts de segmentation telle que nous l'avons vue ; nous sommes ici au stade qui suit la dissémination des centrosomes et où les irradiations ont disparu, tandis que le protoplasme et les noyaux se nécrosent.

Les embryons que nous allons examiner maintenant ne sont pas représentés en entier dans les planches. Le premier provient d'un œuf dispermique et est âgé de 126 heures. D'une extrémité à l'autre du corps, toute la partie droite est plus petite que la partie gauche, tous les organes du côté droit plus petits que les organes du côté gauche, tous les noyaux de droite plus petits que les noyaux de gauche. Le cristallin par exemple, a un diamètre de 50 μ à droite, de 70 μ à gauche, mais il n'est que plus petit et est tout aussi bien conformé. Il en est de même pour tous les autres organes : ventouses, vésicules auditives, branchies, etc. L'anus s'ouvre un peu sur le côté à droite, et a une ouverture irrégulièrement découpée et sinueuse.

Un autre embryon provient d'un œuf trispermique et est âgé de 7 jours. Il présente exactement les mêmes caractères dans la partie moyenne du corps. Tous les organes sont plus développés et les noyaux plus gros à gauche qu'à droite. Mais à partir de la région du pronephros, *cette asymétrie disparaît, en même temps qu'il devient impossible de voir une différence dans la dimension des noyaux à droite et à gauche.*

La figure 83, pl. X, représente deux groupes de noyaux à droite et à gauche du canal épendymaire : ils sont tous semblables. Si, d'autre part, on remonte de la partie asymétrique vers la tête, on voit se succéder une zone symétrique et une zone asymétrique. La première est dans la région des yeux ; les noyaux sont de même volume. L'œil droit mesure 310 μ de diamètre, l'œil gauche 305 μ environ ; les deux cristallins mesurent 9 μ. L'asymétrie reparaît dans les fosses nasales, dont celle de droite est rudimentaire et ne s'ouvre pas dans le pharynx ; elle reparaît également dans la région des vésicules auditives.

Pour ne plus avoir à y revenir, je mentionnerai encore la

présence, chez cet embryon, et d'ailleurs chez d'autres aussi, de petits groupes de plaquettes vitellines intactes, bien isolés et entourés d'une véritable membrane, formée de quelques cellules de tissu conjonctif. La fig. 55 représente cette formation, qui se rencontre un peu partout aux environs immédiats du système nerveux central et parfois dans le tissu nerveux lui-même. Ces amas de plaquettes vitellines ont été décrits dans l'embryon normal de Triton par W. Vogt (09), qui les rattache à des phénomènes de dégénérescence des cellules du plancher de la cavité de segmentation, au moment où il est refoulé par l'invagination archentérique. Peut être s'agit-il ici de la même chose ; mais est-ce normal ou anormal ? Je n'ai trouvé aucune indication bibliographique à ce sujet, en ce qui concerne *Rana fusca*.

Dans un embryon trispermique de 11 jours, j'ai trouvé également une asymétrie très nette, mais localisée d'une autre façon : la moelle est normale d'un bout à l'autre, de même que tout le côté gauche et la tête des deux côtés ; par contre tous les myotomes droits, et le pronephros droit, sont mal développés et ont des noyaux plus petits que dans les mêmes organes du côté gauche. L'anus s'ouvre au milieu de franges, d'excroissances ectodermiques fortement pigmentées.

Détail intéressant : cet embryon trispermique montre avec la plus grande netteté de belles *ébauches génitales*, dont la fig. 97, pl. XII, donne l'image.

Un autre embryon de 11 jours, mais dispermique, montre de même de magnifiques ébauches génitales exactement au même stade. Dans les deux cas, il n'y a aucune différence, entre les cellules qui les constituent, au point de vue de la grosseur des noyaux. Ce dernier embryon montre encore une distention péri-intestinale qui le déforme complètement. On remarque aussi que le tube digestif est plus court, dans une forte proportion, que celui des témoins normaux de même âge. C'est un fait quasi-général dans la structure des larves di-ou trispermiques.

Les fig. 98 et 99 représentent un groupe de cellules cartilagineuses situées respectivement à droite et à gauche chez un

embryon trispermique de 11 jours : on voit combien est nette la différence de grandeur des cellules et des noyaux.

Un embryon dispermique de 15 jours a montré une anomalie intéressante : l'absence complète du poumon droit, ce qui pourrait évidemment avoir des conséquences néfastes sur la vitalité ultérieure.

Je décrirai encore avec quelques détails deux embryons trispermiques âgés respectivement l'un de trente et l'autre de cinquante-quatre jours, parce qu'ils fixeront définitivement les bases de la discussion qui terminera ce dernier chapitre.

Les deux photographies 87 et 91 représentent deux coupes transversales de l'embryon de 30 jours. La première passe par les deux yeux et ce qui frappe immédiatement, c'est la forte asymétrie de toute cette région : l'œil gauche est normal, l'œil droit est plus petit et n'a qu'un cristallin tout à fait minuscule et formé de 7 cellules seulement, v. fig, 90 ; on notera aussi le développement des parties cartilagineuses du côté gauche et du côté droit, l'asymétrie des formes extérieures. Du côté du système nerveux, la moitié gauche est évidemment plus grande, mais l'asymétrie n'est pas encore trop considérable. Elle est réellement formidable, au contraire, si on examine la photo 91, qui représente une coupe passant sous le pronephros et dans la région des ébauches génitales. La moëlle épinière est presque réduite à sa moitié gauche et c'est à peine si un véritable lambeau de tissu nerveux la représente du côté droit ; l'asymétrie des myotomes est tout aussi frappante, comme celle de la forme du corps également. En dessous de la corde dorsale et entre la base des myotomes, on aperçoit deux petits amas de cellules : ce sont de magnifiques ébauches génitales, paires et symétriques, nullement anormales. On voit également la coupe de deux anses intestinales remplies de débris alimentaires, parmi lesquels une belle carapace de rotifère.

Si maintenant, au lieu d'étudier l'ensemble de cet embryon, nous étudions les détails de sa structure, nous avons toute une série de faits intéressants. Notons d'abord que, pour toute une série d'organes, les cellules et les noyaux sont plus

petits à droite qu'à gauche : yeux, cartilages, fosses nasales, épithélium de la cavité buccale, vésicules auditives, pronephros, v. fig. 92 et 93, pl. XII, canaux de Wolff, etc. Cependant il est un détail à noter : dans la région où l'asymétrie de la moëlle épinière est si forte (photo 91), contrairement à ce qu'on pourrait attendre, il n'y a pas moyen de trouver une différence quelconque dans les noyaux de droite et de gauche (fig. 77, pl. XI). Nous verrons quelle est l'explication probable de ce fait. Enfin, à propos de la répartition des petits et des grands noyaux dans cet embryon, il importe de remarquer que la limite des zones qui les contiennent, tantôt coïncide (région céphalique) avec le plan de symétrie, tantôt (région du pronephros), s'en écarte notablement. Quant aux ébauches des membres, elles sont très nettes et présentes à droite et à gauche pour les membres postérieurs, à gauche seulement pour les membres antérieurs ; leurs caractéristiques (grandeur des cellules et des noyaux) sont les mêmes que pour les autres organes. L'anus est normal.

La photographie 86 pl. XII, représente une coupe transversale de la tête de l'embryon de 54 jours. Remarquons d'abord que, comme nous l'avait fait pressentir l'examen extérieur, la forme générale de cette tête est à peine asymétrique : ce sera une caractéristique de cet embryon, que ses formes extérieures compenseront, dans une certaine mesure, l'asymétrie très forte de sa structure interne. L'aspect des yeux est, par contre, tout à fait singulier ; à gauche, l'œil est normal, pourvu d'un magnifique cristallin et mesure 660 μ de diamètre ; à droite, l'œil mesure 360 μ seulement et ne présente pas la moindre trace de cristallin. Tous deux cependant ont une rétine d'aspect normal, avec cônes et bâtonnets et les moindres détails de structure sont présents chez l'un et chez l'autre. Mais ici comme pour tous les organes de ce têtard, les noyaux de la partie droite de son corps sont petits, sont des monocaryons, tandis qu'à gauche ce sont des amphicaryons, notablement plus gros. Malgré le très faible grossissement de cette photographie, on peut soupçonner que les cellules cartilagineuses de gauche sont plus grandes que celles de droite. Je n'ai pas fait de

dessin spécial, les fig. 92 et 93 représentant exactement ce qu'aurait donné ici un plus fort grossissement. On remarque aussi la malformation du système nerveux et son asymétrie : les fig. 100 et 101 en représentent 2 groupes de noyaux.

Sans faire de description spéciale des régions voisines, j'attire l'attention sur la fig. 96, pl. XII, qui représente, dessinée à la chambre claire, la partie moyenne du muscle pharyngien : on voit que les monocaryons et les amphicaryons sont strictement répartis de chaque côté du plan médian, mais que néanmoins l'unité morphologique et fonctionnelle de ce muscle est assurée ; il n'y a aucune séparation entre ces deux portions qui ont pourtant des noyaux si différents.

Parmi les principales particularités de cet embryon, je note encore la différence de taille entre les oreilles, celle de gauche étant plus grande ; la même chose pour les ébauches du membre supérieur qui, fait à retenir, sont toutes deux en prolifération active et contiennent de nombreuses mitoses. Les deux pronephros paraissent être en voie de régression et, un peu plus bas, un mesonephros existe à droite et à gauche (celui-ci plus grand) ; chacun d'eux est pourvu d'un canal excréteur complet, qu'on peut suivre jusqu'au rectum où il vient s'ouvrir. Le poumon droit est tout à fait rudimentaire.

La photographie 70, pl. XI, représente une coupe passant à peu près par le tiers postérieur du corps ; la moëlle montre son asymétrie typique. Sous la corde dorsale, se trouvent l'aorte puis deux ébauches génitales, paraissant normales. Cette région est représentée à un fort grossissement dans la fig. 32 pl. IX. Les glandes génitales sont entrées dans une période de prolifération et on y trouve des mitoses, dont une a été figurée. Il m'est impossible, jusqu'à présent, de dire si les noyaux des cellules génitales sont des amphicaryons ou des monocaryons.

Ce que la photo 76 montre particulièrement bien, c'est la profonde différence qui existe entre les myotomes droits, atrophiés considérablement, et montrant, à un examen approfondi de nombreux symptômes de dégénérescence, des vacuoles, des amas de pigment, etc. et les myotomes gauches qui sont tout à

fait normaux. (On voit aussi deux anses intestinales remplies de débris alimentaires, animaux et végétaux).

Les ébauches des membres inférieurs existent, presqu'égales à gauche et à droite. Enfin l'anus s'ouvre, comme nous l'avons déjà observé, entre des replis de l'ectoderme. Mais dès ce moment, il devient impossible de voir une différence quelconque entre les noyaux et il en est ainsi jusqu'à l'extrémité de la queue. L'état de conservation de l'embryon dispermique de 93 jours n'a pas permis d'en faire l'étude histologique détaillée, mais l'asymétrie de son système nerveux est très typique.

II. — Discussion.

Ce qui caractérise avant tout les embryons provenant d'œufs di- ou trispermiques de *Rana fusca*, c'est qu'ils sont, morphologiquement et physiologiquement, des *embryons anormaux*.

Au point de vue morphologique, cette anomalie peut se résumer en deux points : une asymétrie et l'existence de monocaryons dans certaines régions, d'amphicaryons dans d'autres.

L'asymétrie des embryons et des têtards di- et trispermiques est variable, variable dans son intensité, variable dans sa localisation. Nous avons vu que certains têtards, comme, par exemple, celui que représentent les photographies 87 et 91, pl. XII, sont complètement déformés d'une extrémité à l'autre de leur corps ; d'autres, au contraire, sont presque symétriques. Dans le beau têtard trispermique de 54 jours, l'asymétrie est rigoureusement "bilatérale„ jusqu'à la région anale ; elle disparaît après. Chez d'autres trispermiques, on voit se succéder des zones symétriques et des zones asymétriques, ou bien on voit une série entière de myotomes atrophiés, alors que la moëlle est complètement symétrique. Chez tous les têtards dispermiques (14) que j'ai examinés, l'asymétrie était nettement bilatérale.

La distinction à établir entre *amphi- et monocaryons* est beaucoup plus instructive. Quelle est, exactement, la signification qu'il faut lui donner ? Il n'y a aucun doute à ce sujet : les monocaryons sont, tous, les descendants des noyaux sper-

matiques qui n'ont pas copulé et les amphicaryons ceux du noyau de segmentation. Dans tout œuf di- ou trispermique il y a une région, plus ou moins étendue, où tous les noyaux sont d'origine purement spermatique. Mais cette région n'est pas quelconque ; on se rappelle combien était nette la division de l'œuf fécondé en deux ou trois énergides qui, chacune, indiquaient une région placée sous l'influence d'un seul spermatozoïde. Nous avons assisté, dès la première segmentation, à l'effacement de ces énergides et à leur fusion ; mais ce qu'elles ont créé, la répartition des différentes espèces de noyaux, cela reste immuable et nous en avons vu plusieurs exemples. La région d'un embryon où se trouvent localisés les monocaryons représente, exactement, ce qu'a formé la partie de l'œuf qui constituait l'une des énergides spermatiques des spermatozoïdes non copulants. Théoriquement il y a, dans un embryon trispermique, 1/3 du corps avec des amphicaryons et 2/3 avec des monocaryons et, dans un dispermique, une moitié. Mais il est évident que cette proportion n'est pas, en réalité, aussi stricte ; pourtant on en retrouve suffisamment pour pouvoir dire qu'elle se vérifie : dans les embryons dispermiques, par exemple, on voit les monocaryons à droite, les amphicaryons à gauche ou réciproquement ; dans les trispermiques on retrouve toujours, avec plus ou moins de netteté, un territoire d'amphicaryons (la moitié gauche, antérieure et moyenne, chez l'embryon de 54 jours) et un autre de monocaryons qui, presque toujours, donne l'impression d'être formé de deux parties (partie droite, antérieure et moyenne du corps, d'une part, régions anale et caudale totales d'autre part, chez ce même embryon).

Cette répartition des amphi- et monocaryons est particulièrement intéressante dans les embryons dispermiques et dans certains trispermiques. Pour les premiers, notamment, il suffit de se rappeler que les rapports les plus fréquents entre le plan de symétrie bilatérale de l'œuf et le premier plan de division sont l'anachronisme complet ou une très forte obliquité, pour comprendre pourquoi, chez eux, la répartition des deux sortes des noyaux se fait de chaque côté de la ligne médiane. En effet, il suffit de regarder les schémas IX et X, p.

250, pour se rendre compte que lorsqu'il y a anachronisme, les deux énergides spermatiques de l'œuf dispermique, dont la forme décide de la direction du plan de segmentation, sont l'une droite et l'autre gauche, que les territoires où se développeront la région à monocaryons et la région à amphicaryons représentent donc les deux moitiés de l'embryon futur ! Plus l'obliquité sera forte, plus il en sera ainsi et cela explique que chez 14 embryons dispermiques, on retrouve cette répartition *pratiquement* exacte. Chez les trispermiques, il n'y a aucune raison *a priori* pour que la répartition des amphi- et monocaryons soit aussi régulière. Cependant, nous l'avons vu, c'est presque toujours le plan médian qui sépare leurs régions respectives et cela aussi peut s'expliquer : le schéma XII donne, par exemple, une idée très exacte de ce qui s'est passé pour l'embryon trispermique de 54 jours, où la répartition est si typique ; or, nous le savons, le plan de symétrie des œufs trispermiques a une direction quel-

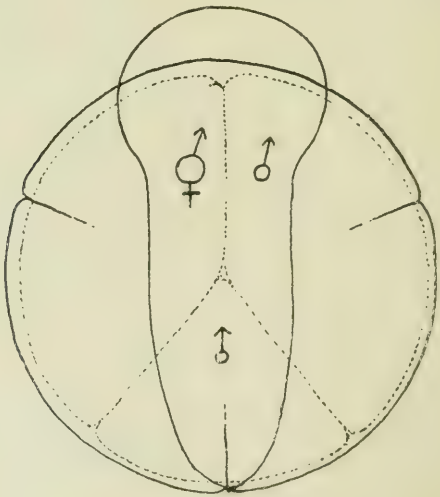


Schéma XII

conque et peut avoir celle-ci comme il peut avoir n'importe quelle autre ; mais il y a naturellement beaucoup de chances pour qu'il passe toujours *à peu près* entre deux des énergides et *à peu près* à travers la troisième.

Il y a aussi une question importante à résoudre : celle des rapports entre l'asymétrie des embryons et la répartition de leurs noyaux. De tout ce que nous a montré l'examen des coupes, il faut retenir ceci : dans l'immense majorité des cas, l'asymétrie est répartie de la même façon que les amphi- et monocaryons et les régions moins développées sont celles où existent ces derniers ; dans de rares exemples (fig. 77, pl. X.) l'asymétrie est *très intense* entre deux parties où existent pourtant des noyaux de même grandeur.

J'insiste sur ces mots " très intense „ au sujet de cette asymétrie non liée à une différence des noyaux ; dans l'exemple choisi comme dans les trois autres cas où cela s'est présenté, il s'agit très probablement, non d'une simple asymétrie, mais de l'absence d'une certaine partie de l'embryon : dans la fig. 77 la moitié si fort réduite de la moëlle donne plutôt l'impression d'un *lambeau* de système nerveux, d'un fragment et non d'une partie homologue à l'autre et aussi complète mais simplement plus petite. Un autre caractère de ces asymétries est d'être localisées à des territoires souvent très restreints, s'étendant sur 10 ou 20 coupes au maximum. Au contraire, lorsqu'il s'agit d'asymétries typiques, avec noyaux inégaux, la différence entre les deux parties est bien moins forte, ou, en tous cas, donne toujours très nettement l'impression d'un organe complet, mais plus petit d'un côté que de l'autre (comparez les fig. 76 et 77).

Pourquoi les organes ne contenant que des monocaryons sont-ils plus petits ? Nous touchons ici à l'une des questions les plus générales soulevées par la polyspermie expérimentale. Le simple examen des figures représentant, comme les fig. 98 et 90, pl. XII, par exemple, un organe ou un fragment d'organe à droite et le même à gauche ou inversement, nous montre de quoi il s'agit : là où il y a de petits noyaux, on trouve de petites cellules, là où il y en a de gros, on trouve de grosses cellules. Si la "relation caryoplasmique [1]„ était encore à démontrer,on aurait ici une preuve de son existence, aussi idéale-

[1] Kernplasmarelation.

ment décisive qu'on pourrait le souhaiter. Mais les travaux de Gerassimow (02, 04), de R. Hertwig (03, 08), de Th. Boveri (05), de Marcus (06), de Erdmann (08), de Godlewski (08), de El. et Em. Marchal (07, 09), etc., sont assez précis pour qu'il soit inutile d'insister sur ce point. Par contre, l'existence de la relation de masses entre noyau et protoplasme a ici des conséquences assez particulieres au point de vue de la *physiologie* des têtards di- et trispermiques. Il y a là matière à une étude approfondie qui serait intéressante; mais ne pouvant l'aborder ici de façon détaillée, je me bornerai à en esquisser les grandes lignes.

Le fait, par exemple, qu'une série entière de myotomes sont moins développés que ceux du côté opposé amènera évidemment l'incapacité, pour un têtard, de se mouvoir normalement; il ne pourra pas se déplacer en ligné droite, à moins qu'il ne s'adapte à contracter moins fort le muscle le plus développé, ce que j'ignore complètement : mais presque toutes mes notes d'expériences mentionnent des mouvements anormaux et gyratoires, de véritables " mouvements de manège „, plus ou moins prononcés. Or il est bien certain que ce têtard sera, par le fait même, exposé à mourir de faim faute de pouvoir attraper les petits organismes dont il se nourrit.

Il est non moins évident qu'un petit pronephros ou un canal de Wolff très étroit, que des branchies rudimentaires ou un tube digestif trop court sont autant de circonstances inconciliables avec une existence normale. *Tous les têtards di- ou trispermiques sont malades, et ils sont malades parce qu'ils ont une moitié ou deux tiers de leurs noyaux qui sont plus petits, sont logés dans des cellules plus petites, dont l'ensemble forme des organes trop petits et insuffisants, fonctionnant mal.* On peut fort bien admettre que cette réduction d'organes essentiels n'a aucune importance pour toute la région de l'embryon où il y a des monocaryons ; il est fort possible, par exemple, qu'un pronephros réduit soit très suffisant pour une moitié du corps qui est elle-même réduite. Mais il ne faut pas raisonner ainsi : ce qui importe ici, c'est le fonctionnement total de l'organisme et c'est ce fonctionnement *entier* qui est troublé : si, pour prendre

un exemple, l'existence de myotomes trop petits empêche un têtard de bien se nourrir, c'est son développement entier qui sera compromis. Ceci nous met sur la voie d'un autre problème non moins important : celui de la *corrélation des organes*. Je citerai seulement un exemple typique : l'absence de cristallin, ou la présence d'un cristallin tout à fait rudimentaire dans l'œil du côté des monocaryons, œil qui, nous l'avons vu, est sensiblement plus petit de moitié que celui du côté opposé. On sait, depuis les travaux de Colucci (91), G. Wolff (95), E. Muller (96), Spemann (01, 03), Lewis (04), Fischel (98), etc., que la rétine détermine par sa seule présence la formation d'un cristallin aux dépens de l'ectoderme dans l'ontogenèse normale, aux dépens de l'iris dans les expériences de régénération, etc. Or, ici, pourquoi n'y a-t-il pas eu formation de cristallin, ou pourquoi celui-ci est-il resté rudimentaire ? La rétine est pourtant aussi différenciée dans le petit œil que dans le grand et ne montre aucune anomalie appréciable ; il y a tout aussi longtemps qu'elle est en rapport avec l'ectoderme ou avec un tissu capable de former un cristallin sous son influence.

On voit donc, rien que par ces quelques exemples, que la présence simultanée de gros et de petits noyaux dans un même embryon peut amener les conséquences les plus lointaines, si pas les plus imprévues, au point de vue du fonctionnement de ses organes et entraîne plus ou moins rapidement sa mort. Ce n'est pas la première fois que nous cherchons les causes de la mort des embryons di- tri- ou polyspermiques, mais c'est la première fois que nous voyons la polyspermie elle-même être directement en cause ; il ne s'agit plus ici de causes banales, d'accidents dûs à des hasards de segmentation et qui pourraient arriver tout aussi bien à des embryons monospermiques. Seule, jusqu'à présent, la polyspermie expérimentale a été capable d'amener un seul et même organisme à succomber parce que ses noyaux sont les uns des amphicaryons, les autres des monocaryons.

Mais il y a une question qui vient à l'esprit : il est bien évident que le seul fait que ceux-ci sont plus petits amène toute une série d'organes à être eux-mêmes plus petits et

insuffisants dans l'économie de l'organisme entier ; mais ne faut-il pas se demander si, outre leur petite taille, ces noyaux purement spermatiques n'ont pas *en eux-mêmes* des causes de développement anormal ? N'y a-t-il à considérer, dans un embryon polyspermique, que le déséquilibre qui résulte uniquement, en dernière analyse, de ce que toutes ses parties ne sont pas construites sur une même mesure ? N'y a-t-il pas *autre chose ?*

Ici il faut entrer dans le domaine de la simple hypothèse. Mais les œufs di- et trispermiques sont à ce point de vue moins suggestifs que les œufs polyspermiques et nous ferons quelques emprunts au travail de Brachet (1910*b*). Chez ceux-ci, nous l'avons vu, les embryons qui parviennent à atteindre un âge de quelques jours sont très rares et cela s'explique par la proportion considérablement plus grande que pour les œufs seulement di- ou trispermiques, d'œufs qui succombent à la suite des arrêts de segmentation, des défauts de réglage, etc., dont la fréquence augmente beaucoup. Mais ceux qui dépassent le stade critique de la gastrulation, ceux où plus aucun accident de réglage n'est à redouter, et qui arrivent à être de petits embryons, ceux là aussi meurent beaucoup plus rapidement. Or, si on examine leur structure, on constate également qu'il y a des amphicaryons dans certaines régions, des monocaryons dans d'autres, et qu'il en résulte aussi une asymétrie, un défaut de proportion dans l'ensemble de l'organisme. Mais, au lieu d'être (théoriquement) la moitié ou les deux tiers du nombre total des noyaux, les monocaryons en représentent ici les $^4/_5$ ou les $^5/_6$ ou les $^6/_7$ etc., suivant le degré de polyspermie. En d'autres termes, *plus la polyspermie est forte, plus il y a de régions de l'embryon où tous les noyaux sont de même grosseur* ; Brachet en donne quelques exemples et ne retrouve parfois les amphicaryons que dans une petite région de la tête ! Partout ailleurs, noyaux et cellules ont les mêmes dimensions. Brachet a été frappé, comme nous, des graves conséquences qu'entraîne la présence d'organes plus petits d'un côté que de l'autre ; mais il va de soi que ces conséquences sont bien moins importantes dans les embryons polyspermiques où tout pourra se borner à l'existence

d'une moitié ou d'un quart de tête plus grand, que dans les embryons seulement dispermiques, où c'est d'une moitié entière du corps qu'il s'agit. Si c'était uniquement ce déséquilibre des parties qui entraînait la mort, il faudrait s'attendre à ce que les embryons dispermiques meurent beaucoup plus vite que les polyspermiques. C'est précisément le contraire de ce qui arrive.

Il y aurait donc *autre chose* ; Brachet propose deux hypothèses, qui ne s'excluent pas absolument, mais dont la seconde lui semble plus probable : 1°) insuffisance quantitative de chromatine dans chaque cellule, dans la région de l'embryon à noyaux purement spermatiques, c'est-à-dire ne contenant que la moitié du nombre normal, mais la " *série* „ complète cependant des chromosomes ; 2°) manifestation, à un certain moment, des " petites propriétés spécifiques „ propres à chacun des spermatozoïdes qui entrent dans l'œuf, amenant dans l'ensemble du développement un conflit de tendances incompatible avec l'harmonie indispensable à une ontogenèse normale.

La première de ces hypothèses se concilie avec quelques faits : j'ai signalé, dans la partie descriptive de ce chapitre, la présence de lésions de dégénérescence dans les myotomes à monocaryons du côté droit d'un embryon de 54 jours, lésions consistant en pigmentations du protoplasme, en formation de vacuoles et en disparition, par places, des myofibrilles ; du côté gauche il n'y a rien de semblable. Ce n'est pas le seul exemple de lésions limitées à la zone à monocaryons que j'ai pu constater : dans ce même embryon, et toujours du *seul côté droit*, le pronephros présente tous les symptômes de ce que les anatomo-pathologistes appellent la "tuméfaction trouble„ ; il en est de même pour le canal de Wolff, mais le mesonephros est intact. Sans avoir le droit de l'affirmer, on peut *supposer* qu'il s'agit là d'altérations cellulaires, ayant une origine profonde dans la cellule elle-même. Il ne faut pas cacher que, si c'est ainsi que les choses se passent, leur explication reste une énigme : ces cellules contiennent peut-être trop peu de chromatine, mais nous avons vu qu'elles sont aussi plus petites en raison même de ce fait. S'il faut réellement ramener leur dégénérescence à des

causes aussi délicates qu'un rapport défectueux entre chromatine et protoplasme, c'est qu'à un certain moment, la *Kernplasmarelation* cesse d'être assez exactement ce qu'elle doit être ; mais de telles suppositions sont sans contrôle possible.

L'autre explication serait un conflit entre tendances morphogéniques légèrement différentes, conflit qui amènerait une *dysharmonie du développement*. En d'autres termes, l'embryon succomberait parce que sa *paternité* est multiple. Cette théorie est fort séduisante et d'accord avec les expériences de Godlewski (06) etc., qui démontrent que les caractères paternels se manifestent seulement après un certain stade de développement, avant lequel l'œuf préside seul à l'ontogenèse. Mais elle a contre elle, sinon de graves objections, du moins une incertitude ou même une ignorance de trop de choses nécessaires à sa compréhension : les questions *d'individualité* sont certes parmi les plus controversées, comme aussi celle de l'influence des organes les uns sur les autres.

Mais nous aurons l'occasion de revenir sur ce point dans les considérations générales qui termineront notre exposé.

Quoi qu'il en soit, il n'est pas douteux que *la polyspermie est incompatible avec un développement normal*, même quand elle n'est accompagnée que de polyfécondation partielle. *La fin naturelle des embryons polyspermiques est la mort, dans un délai plus ou moins long. Ces embryons meurent parce qu'ils sont construits de telle sorte que le fonctionnement normal de leurs organes est impossible, par le seul fait que la polyspermie produit chez eux des noyaux de grosseur différente. Ils meurent encore pour d'autres motifs qu'il semble jusqu'à présent impossible de préciser, mais qui se rattachent probablement soit à un vice de la relation caryoplasmique, soit à des causes plus profondes d'hérédité et de perturbation de l'individualité.*

Considérations générales.

A côté de l'intérêt qu'elle présente par elle même, nous avons vu combien l'étude du mécanisme de la fécondation et du développement des œufs di- et trispermiques de *Rana fusca*

peut devenir un puissant moyen d'investigation, dans le domaine de l'ontogenèse normale, lorsqu'on se donne la peine de s'arrêter aux nombreux problèmes qu'elle soulève et qui nous sont apparus comme des "à côté„ de la polyspermie expérimentale proprement dite.

Mais le seul lien de toutes ces questions, qui se sont montrées très diverses, est de venir se rattacher successivement à tel ou tel incident de ce développement, et ce serait une lourde faute de vouloir créer entre elles d'autres relations que celle-là. Je ne puis, ici, que rappeler la portée considérable de certaines, comme, par exemple, les conclusions relatives à la symétrie bilatérale de l'œuf, à l'étude cytologique des arrêts régionaux de segmentation, aux phénomènes les plus intimes de la fécondation normale, etc., en priant le lecteur de bien vouloir s'en rapporter aux considérations générales et aux discussions qui accompagnent chaque chapitre de ce travail et se rattachent aux points spéciaux qui y sont traités. Il serait fastidieux et illogique de les répéter ici.

Ce chapitre final de notre étude pourra donc être bref et se borner à donner une vue d'ensemble du développement des œufs di-et trispermiques de grenouille. Envisagé de cette façon, ce développement présente les analogies les plus étroites avec celui des œufs polyspermiques, dont Brachet (1900 a et b) nous a déjà décrit l'évolution. Forcément, par conséquent, nous nous rencontrerons ici dans les grandes lignes ; mais cela nous permettra aussi de montrer que, même à ce point de vue, la dispermie ou la trispermie d'une part, la polyspermie d'autre part, conduisent à envisager les faits sous un angle quelque peu différent et qui justifie une étude particulière, aussi bien que les questions plus spéciales, sur lesquelles je n'ai plus à revenir.

Un premier fait à mettre en évidence, c'est que, chez *Rana fusca*, la polyspermie est, à tous les degrés, incompatible avec un développement complet et aboutit toujours à la mort, après une échéance plus ou moins longue. Brachet nous a démontré qu'un œuf de grenouille polyspermique *ne peut pas* échapper à la mort ; nous avons vu que les œufs seulement di- ou trisper-

miques n'y échappent pas non plus et que la mort a, chez eux, ce même caractère d'être une conséquence inéluctable de la pénétration de plus d'un spermatozoïde dans l'œuf.

Mais entre les œufs di- ou trispermiques et les polyspermiques existe pourtant cette différence bien nette et que nous ne devons pas perdre de vue, que ceux-ci succombent beaucoup plus vite que les premiers. Brachet observe, dans ses cultures, des milliers d'œufs polyspermiques : dès le stade gastrula, son matériel se trouve réduit à quelques unités. Il nous décrit comme tout à fait rares des survies de 3 à 4 jours, comme exceptionnelle une survie de 9 jours. De mon côté, le nombre des œufs divisés en trois ou de ceux qui se segmentent en six à la deuxième division est vraiment très restreint et je n'ai pu en isoler que 286 sur une série de 50 expériences. Par contre la moitié environ réussissent à franchir le stade gastrula ; les têtards di- ou trispermiques de 5 à 10 jours sont nombreux et plusieurs atteignent quinze ou vingt jours, quelques-uns davantage et, nous l'avons vu, jusqu'à trois mois ! Il n'est donc pas douteux que plus la polyspermie est intense, plus les désordres qu'elle amène dans le développement de l'œuf entraînent rapidement la mort de celui-ci.

Or, ces désordres, nous en avons démontré la nature ; nous savons que pendant toute une période, la polyspermie, chez *Rana fusca*, semble d'abord n'avoir d'autres conséquences pathologiques que des arrêts régionaux, plus ou moins importants, du processus de la segmentation ; nous avons vu qu'il n'y a rien là qui lui soit particulier, en ce sens qu'elle se borne à créer, dans l'œuf ou dans l'une quelconque des cellules auxquelles il donne naissance, des conditions, purement mécaniques, défavorables à la marche régulière des divisions cellulaires. Si les œufs polyspermiques étudiés par Brachet succombent en masse dès les premiers stades, c'est, comme il le dit d'ailleurs lui-même, uniquement parce que ces conditions défavorables sont forcément plus fréquentes chez eux, en raison de la complication immédiate de leur segmentation.

Chez les œufs trispermiques et, à plus forte raison, chez les dispermiques, elles sont plus rares et un beaucoup plus

grand nombre de ces œufs peuvent arriver à une segmentation pratiquement complète, condition indispensable de leur développement ultérieur.

C'est donc un premier point que l'on peut considérer comme définitivement acquis : nous savons, très exactement, pourquoi les cultures polyspermiques se réduisent rapidement, dès le stade gastrula, à quelques individus seulement, pourquoi les cultures qui ne sont que di- ou trispermiques arrivent à ce même stade sans que la mortalité dépasse sensiblement 50 %.

Je crois avoir démontré que malgré leur résistance plus grande, les embryons provenant d'œufs seulement di- ou trispermiques doivent être considérés comme incapables d'arriver à l'état adulte ou, en tous cas, d'avoir jamais un fonctionnement physiologique normal et qui permette leur évolution totale ; nous avons vu aussi que, si nous ne pouvons pas affirmer que nous connaissons *toutes* les causes de cette incapacité, nous en connaissions tout au moins une qui *suffit*, à elle seule, à nous en rendre compte : c'est ce fait que ces embryons sont véritablement construits sur deux " mesures „ différentes, tous les organes qui se forment dans la région à monocaryons étant plus petits et physiologiquement insuffisants.

Mais il faut évidemment, pour que ce fait amène la mort d'un embryon, que celui-ci ait atteint un âge suffisamment avancé pour que ces organes et leur bon fonctionnement soient indispensables à sa vie. Aussi, si Brachet a pu interpréter comme nous la mort des têtards polyspermiques de 4 ou 9 jours, il s'est trouvé devant le même problème que nous, également, pour expliquer celle des embryons de 60, 70, 80 ou 90 heures. Il semble, en effet, inadmissible qu'une simple asymétrie puisse être en cause, à des stades aussi jeunes, et il ne peut plus, d'autre part, être encore question d'arrêts de segmentation.

Brachet a émis l'hypothèse, sans s'y rallier complètement d'ailleurs, que la mort des jeunes embryons polyspermiques pourrait peut-être, et tout au moins en partie, s'expliquer par une insuffisance de chromatine nucléaire dans les régions où il n'y a que des monocaryons, insuffisance purement quantitative d'ailleurs, chaque noyau contenant la " série „ complète des

chromosomes. Cette interprétation rendrait compte, en tous cas, de la survie des embryons di -et trispermiques, où la région à amphicaryons (ou à chromatine suffisante) représente encore soit la moitié, soit les deux tiers du corps, tandis que chez les polyspermiques, elle n'en représente plus qu'un cinquième, un sixième, etc. Mais cela ne nous explique pas, au contraire, que des embryons di- ou trispermiques, assez nombreux, succombent eux aussi à des stades très jeunes.

Mais Brachet a proposé également une autre explication, à laquelle je me rallie plus volontiers qu'à la précédente, tout en insistant sur la large part d'hypothèse qu'elle contient ; il s'agit, nous l'avons vu, de conflits éventuels entre les " petites propriétés spécifiques „ qui distinguent l'un de l'autre les différents spermatozoïdes d'un même individu ; de ces conflits possibles résulterait une dysharmonie du développement, incompatible avec la continuation des processus ontogéniques. Telle que Brachet l'a formulée, cette interprétation rend parfaitement compte, encore une fois, de la longue survie d'un grand nombre de têtards di- et trispermiques, mais pas de ce fait qu'il y en a pourtant assez bien qui succombent, sans causes apparentes, aux stades de 60 à 90 heures. Cependant, je crois qu'il est possible de *compléter* cette explication et de la rendre applicable à *l'ensemble* des faits observés, tant chez les œufs polyspermiques que chez les di- ou trispermiques.

Tous les biologistes connaissent la courbe des fluctuations, ou courbe de Quetelet. Si on admet, et cela semble bien démontré, que les spermatozoïdes d'un même individu peuvent être porteurs de caractères héréditaires légèrement différents les uns des autres, il est de toute évidence qu'il y a lieu d'établir, pour eux, une courbe de variabilité, en ce sens qu'on peut affirmer sans crainte que le plus grand nombre se ressemblent très fort, qu'un très petit nombre, au contraire, s'écartent notablement du type moyen.

Lorsque le liquide qui contient tous ces spermatozoïdes se trouve au contact d'un certain nombre d'œufs, dans les conditions que réalise la technique suivie dans nos expériences, il en est, parmi ces œufs, qui en laisseront pénétrer deux ou trois

seulement ; il en est d'autres qui en laisseront pénétrer 5, 10, 15 ou plus. Or il est bien certain que, dans ces derniers cas, les chances augmentent pour qu'il y ait, parmi ces 10 ou ces 15 spermatozoïdes, des types suffisamment éloignés l'un de l'autre sur la courbe de variabilité pour qu'il puisse y avoir conflit entre leurs tendances morphogénétiques. Au contraire, lorsqu'il n'y en a que deux ou trois qui pénètrent dans un œuf, il y a beaucoup de chances pour qu'ils appartiennent au groupe le plus nombreux, c'est à dire au groupe moyen.

On s'expliquerait dès lors parfaitement, pourquoi une survie plus ou moins longue est le cas le plus fréquent pour les œufs di- ou trispermiques et une mort rapide pour les œufs polyspermiques. On pourrait de même s'expliquer qu'il existe, à la fois de *rares* têtards polyspermiques qui peuvent vivre quelques jours et de *rares* têtards di- ou trispermiques qui succombent à de très jeunes stades, sans qu'on puisse invoquer *encore* des arrêts de segmentation, ou *déjà* une insuffisance fonctionnelle de certains organes.

Cette explication devient donc fort séduisante, mais elle est évidemment subordonnée à la réalité des conflits entre tendances morphogénétiques légèrement différentes et à leur importance pour la vie de l'embryon.

Pour conclure, c'est par deux certitudes : les arrêts de segmentation et l'insuffisance des organes formés dans la région à monocaryons, et par une hypothèse, d'ailleurs fort plausible, que nous parvenons à nous rendre compte de l'essence même de l'allure pathologique du développement des œufs di- tri- ou polyspermiques de *Rana fusca*, en même temps que des différences qu'il y a entre les uns et les autres.

En outre, il n'est pas douteux que nous avons maintenant une notion très précise de la *nécessité de la monospermie*, pour que l'œuf de *Rana fusca* arrive à son complet développement : elle est nécessaire, non pas pour que l'oeuf puisse se segmenter et donner naissance à un embryon, même hautement différencié, mais : 1°) pour que la segmentation ne soit pas exposée à s'ar-

rêter à chaque nouvelle série de divisions; 2°) très vraisemblablement pour que l'ontogenèse se déroule harmonieusement et sous l'influence de tendances spécifiques concordantes; 3°) pour que toutes les parties de l'embryon soient construites sur une même mesure, qui lui donne une structure homogène et compatible avec un fonctionnement normal et bien équilibré de tous ses organes.

Or, si on examine ce qui se passe chez les organismes à polyspermie physiologique vraie (Sélaciens, Reptiles), ou simplement indifférente (Amphibiens urodèles, Insectes), on constate que la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans l'oeuf ne met obstacle à aucune de ces trois nécessités de la monospermie : cela revient à dire que la polyspermie, chez ces organismes, n'est jamais suivie de polyfécondation, même partielle, et il ne faut pas chercher ailleurs les causes de son caractère inoffensif.

C'est en s'opposant à l'existence de ces trois indispensables conséquences de la fécondation normale, que la polyspermie est au contraire si néfaste et toujours mortelle chez la grenouille et chez toutes les espèces où elle est suivie de polyfécondation, partielle ici, totale ailleurs, comme chez les Échinodermes ou l'Ascaris.

Ceci nous amène à comparer l'ensemble de nos résultats avec ceux obtenus par Boveri dans l'étude des œufs dispermiques d'oursin et nous terminerons par quelques considérations sur ce sujet. Écartons d'abord l'évolution des œufs du type " Doppelspindel „ : ce sont des œufs dispermiques à " difécondation „ partielle tout aussi schématique, tout aussi typique que chez les œufs dispermiques de grenouille. Boveri a observé leur survie plus ou moins longue et aussi leur mort inévitable après un certain temps; le seul examen de la planche IX de son travail (07) démontre que ces Plutei issus d'œufs " Doppelspindeltypus „ ont, eux aussi, toute une moitié de leur corps hypogénésiée et fonctionnellement insuffisante. Ce fait entraîne la mort de tous ceux qui ont échappé aux accidents de la segmentation, que Boveri décrit également, ainsi que nous l'avons vu dans le cours de notre étude, de

telle sorte que ces œufs et les œufs dispermiques de *Rana* s'interprètent exactement de la même manière, bien que Boveri ait envisagé les faits sous un angle très différent, comme nous allons le voir.

Les choses sont plus compliquées lorsqu'il s'agit des œufs d'oursin des types " tetraster „ ou " triaster „, où la pénétration de deux spermatozoïdes a été suivie de difécondation totale. Ces œufs, également, sont voués à une mort certaine, mais infiniment plus rapide que dans nos expériences ; la mortalité est énorme dès les premiers stades, dans les cultures de Boveri et ses statistiques en témoignent. Or, fait extrêmement intéressant, cette mortalité précoce qui s'est expliquée, dans nos expériences, uniquement par des arrêts de segmentation causés par les conditions purement mécaniques dues à la polyspermie, ne peut nullement s'interpréter de la même façon ici : qu'ils se divisent en quatre ou qu'ils se divisent en trois, ces œufs dispermiques d'oursin n'ont plus à subir de divisions régulatrices, ni à s'exposer à leurs dangers ; chacune de ces trois ou de ces quatre cellules ne contient qu'un noyau et un centrosome. On ne peut pas, non plus, invoquer des asymétries et des insuffisances fonctionnelles, car ces œufs succombent bien avant l'apparition des premières ébauches d'organes.

Mais où l'interprétation de Brachet et la nôtre d'une part, celle de Boveri d'autre part, se rencontrent sur un terrain sinon analogue, du moins comparable, c'est lorsqu'il s'agit de rendre responsable de cette mortalité *une discordance* entre les tendances ontogéniques de deux régions différentes d'un même œuf.

Boveri explique cette discordance par l'absence, dans certaines cellules, la présence, parfois inopportune, dans d'autres, d'un chromosome déterminé ou d'un groupe de chromosomes qui seraient porteurs de telle ou telle tendance. Il nous a démontré que cette absence ou cette présence, opportune ou non, sont des conséquences directes de la mitose tri- ou tétrapolaire qui succède, chez l'oursin, à la copulation des pronuclei et amène un partage, variable au plus haut point, de la chromatine que ces noyaux contenaient.

Chez la grenouille, cette discordance s'explique uniquement par des différences, plus ou moins importantes, entre les tendances que portent, non pas tel ou tel chromosome individuellement, mais bien la *totalité* des éléments porteurs des caractères héréditaires ; nous avons vu, en effet, que c'est toujours devant une " série „ complète de chromosomes que nous nous trouvons, et jamais devant des noyaux devenus secondairement " héréditairement partiels ou compliqués. „

Des chromosomes nous n'avons eu, à aucun moment, *la nécessité* de nous occuper. Si Boveri a été conduit, par sa remarquable analyse du développement des œufs dispermiques des types " triaster „ et " tetraster „, à faire de leur individualité et de leur importance capitale comme facteurs internes de l'ontogenèse, le couronnement et le but de son travail, on peut cependant lui reprocher d'avoir émis une hypothèse inutile, lorsqu'il considère la survie des œufs du type " Doppelspindel „ comme un argument en faveur de son interprétation de la mort rapide des autres, car ces œufs aussi finissent toujours par succomber malgré leur " série „ complète de chromosomes. Entre les œufs di- tri- ou polyspermiques de *Rana* et les œufs dispermiques d'*Echinus* " Doppelspindeltypus „ d'une part, les œufs dispermiques d'*Echinus* „Tri- ou Tetrastertypus„ d'autre part, il faut établir *une distinction essentielle*; chez les premiers la polyfécondation n'est que partielle et je n'ai plus à revenir sur ses caractères, mais je rappelle que l'on peut parfaitement se rendre compte de toutes les particularités de leur développement sans avoir même à prononcer le mot chromosome ; chez les seconds, la polyfécondation est totale, et ce qui la caractérise c'est, d'abord, la fusion de tout ce que les deux spermatozoïdes peuvent apporter de tendances morphogénétiques dans un noyau unique, puis une répartition très variable et parfois très inégale, dans les cellules de l'œuf segmenté, des chromosomes qui, d'après Boveri, porteraient chacun l'une ou l'autre de ces tendances. *Il y a là deux modalités bien distinctes de la polyspermie expérimentale et de profondes différences entre les problèmes que chacune pose devant la science.*

Post-scriptum. — Au moment où j'envoie mon manuscrit à

l'impression, paraît un important travail de Boveri (1910 *b*) sur la potentialité des premiers blastomères chez l'Ascaris et qui vient compléter la remarquable série des recherches de Boveri et Stevens (04), Stevens (09), Boveri et Hogue (1910), Hogue (1910), Boveri (1910 *a*).

Le point le plus important démontré par Boveri est quelque peu étranger au sujet qui nous occupe et je n'entrerai pas dans une analyse détaillée de cette partie de son travail où il traite de la " Chromatindiminution „, qui donne une allure si différente à la mitose dans les deux premiers blastomères chez l'Ascaris. L'auteur précise ses propres recherches de 1899, celles de Herla (95), de Zur Strassen (96-99), de Zoja (96) et arrive à cette intéressante conclusion, dont je n'ai pas besoin de faire ressortir l'importance, que : " ob ein Chromosoma diminuiert wird oder nicht, hängt ausschiesslich ab von der Umgebung, in der es sich befindet... so bleibt nur die Möglichkeit übrig, dass die Beschaffenheit des Plasmas es ist, welche das Schicksal der in ihm liegenden Chromosomen nach der einen oder andern Richtung bestimmt (p 179). „

Or, c'est en grande partie l'étude des œufs dispermiques d'Ascaris qui lui donne les bases de cette interprétation et, incidemment, Boveri précise les notions qu'il avait déjà établies à ce sujet avec Miss Stevens en 1904. Ces œufs dispermiques ne sont pas obtenus expérimentalement : dans les innombrables œufs d'Ascaris que l'auteur examine, il en trouve un très petit nombre qui se divisent d'emblée en quatre blastomères.

J'ai rappelé plus haut que Van Beneden (83) avait également constaté ce fait. Chez l'Ascaris, comme chez la majorité des œufs d'oursin, la dispermie se complique de difécondation totale, copulation du pronucleus femelle avec les deux noyaux spermatiques et mitose tétrapolaire. Le développement de ces œufs est, de même, entièrement pathologique, mais il le serait, d'après Boveri, pour des causes différentes. Chez l'oursin (types tetraster et triaster) nous avons vu que c'est un partage inégal de la chromatine entre les premiers blastomères qui est responsable des anomalies du développement de l'œuf dispermique.

Ce partage inégal se produit aussi, nous le savons, chez l'Ascaris, mais Boveri montre que ce n'est pas lui qui détermine l'allule pathologique du développement, mais bien une répartition anormale des " plasmatische Qualitäten „ de l'œuf, dans l'ensemble des cellules qui proviennent de sa segmentation irrégulière. L'explication qu'il donne de la différence entre l'oursin et l'Ascaris est fort intéressante : " beim Seeigelei beginnt die „ Entwicklung „ erst nach den Blastulastadium, mit der Mesenchymbildung und Gastrulation. Bei Ascaris dagegen beginnt die Entwicklung, d. h. Differenzierung in bestimmte Organanlagen, schon mit dem ersten Furchungschritt ; jede Zell hat einen bestimmten nicht veränderbaren organbildenden Wert, und deshalb sind hier Abweichungen, wie sie durch mehrfaches Auftreten der normalen Zellen AB [1] und P^1 hervorgerufen werden, irreparabel „ (p. 194).

Si je cite ce passage, c'est parce qu'il permet d'établir une comparaison entre l'œuf d'*Ascaris* et l'œuf de *Rana*. Bien que Boveri se refuse, pour des raisons qu'il est inutile d'exposer ici, à considérer l'œuf d'Ascaris comme un œuf à mosaïque, il n'est pas douteux qu'il y a entre eux ce rapprochement que la différenciation ou, si l'on veut, la fixation des localisations germinales y est extrêmement précoce et qu'on peut admettre jusqu'à un certain point, que l'œuf d'Ascaris dispermique réalise ce que pourrait faire la dispermie avec difécondation totale dans l'œuf de *Rana fusca*. Mais pour que cette comparaison porte ses fruits, il faudrait observer des embryons dispermiques d'Ascaris suffisamment âgés, ce qui n'a pas été fait jusqu'à présent. Il n'est pas douteux, tout en insistant encore sur l'importance du beau travail de Boveri, que la dispermie chez l'Ascaris mériterait d'être étudiée pour elle-même de façon plus approfondie. Peut-être cette étude permettrait-elle

[1] Par cellule AB, Boveri entend les cellules où les chromosomes sont du type somatique, ayant subi la « Chromatindiminution » et par cellule P^1 (ou P^2 etc), celles où les chromosomes sont restés tels qu'ils se présentaient dans l'œuf fécondé avant la segmentation (Urchromosomen).

de préciser davantage l'importance de la distinction que Boveri établit entre l'œuf d'oursin et l'œuf d'Ascaris, car l'observation des œufs di- tri- ou polyspermiques de *Rana fusca* semble démontrer que la question de la localisation des tendances germinatives, ou sa fixation, n'a rien à voir avec les conséquences plus ou moins funestes de la polyspermie, et que celles-ci sont différentes suivant qu'il y a ou qu'il n'y a pas polyfécondation totale ou partielle.

Université de Bruxelles, Institut d'Anatomie R. Warocqué,
15 Décembre 1910.

BIBLIOGRAPHIE.

I. — Liste des auteurs cités dans le texte.

AUERBACH, L. Untersuchungen über die Spermatogenese von « Paludina vivipara ». *Jen. Zeitschr. f. Naturw*, Bd. XXX, 1896.

BALFOUR, F. M. A preliminary account of the development of the Elasmobranch fishes. *Quart. Journ. of micr. Sc.*, vol. XIV, 1874.

Id. Handbuch der vergleichende Embryologie (Deutsche Aufgabe). *Jena*, 1880.

BALLOWITZ, E. Die Abfurchung von Paraspermiumzellen und das Auftreten von Paraspermiumfurchen in der polyspermen Keimscheibe der meroblastischen Wirbeltiereier. *Anat. Anz.*, Bd. XXIII, 1903.

* Id. Die Entwicklungsgeschichte der Kreuzotter. *Jena*, 1903.

VAN BAMBEKE, Ch. Sur les trous vitellins que présentent les œufs fécondés des Amphibiens. *Bull. Acad. r. de Belg.*, cl. des Sc., 1870.

Id. Recherches sur l'embryologie des Batraciens. *Bull. Acad. r. de Belg.*, t. LXI, 1876 (2e série).

Id Nouvelles recherches sur l'embryologie des Batraciens. *Arch. de Biologie*, t. I, 1880.

Id. Sur un groupement de granules pigmentaires dans l'œuf en segmentation d'Amphibiens anoures et du Crapaud commun en particulier. *Bull. Acad. r. de Belg.*, cl. des Sc., t. XXXI, (3e série), 1896.

BALTZER, F. Die Chromosomen von *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus microtuberculatus*. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. II, 1909.

(*) Les ouvrages marqués d'un astérisque n'ont pas pu être consultés et sont cités d'apres des références.

BATAILLON, E. Sur les rapports qui existent entre le premier sillon de segmentation et l'axe embryonnaire chez les Amphibiens et les Téléostéens. *C. R. Ac. des Sc. de Paris*, t. V, 1896.

Id. Nouvelles recherches sur les mécanismes de l'Évolution. Les premiers stades du développement chez les Poissons et les Amphibiens *Arch. de Zool. exp. et gén.*, 3e s., t. V, 1897.

Id. Études expérimentales sur l'évolution des Amphibiens. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XV, 1901.

VAN BENEDEN, Ed. Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. *Arch. de Biol.*, t. IV, 1883.

BLOCHMANN, F. Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern. *Morph. Jahrb.*, Bd. XII, 1887.

BLOUNT. The early development of the pigeon 'segg. *Biol. Bull.*, vol. XIII, 1907.

BONNEVIE, Kr. Untersuchungen über Keimzellen, III. Physiologische Polyspermie bei Bryozoen. *Jên. Zeitschr. f. Naturw.*, Bd. XLII, 1907.

BORN, G. Biologischen Untersuchungen. I, Ueber den Einfluss der Schwere auf das Froschei. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXIV, 1885.

Id. Id. II. Weitere Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anuren. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXVII, 1886.

Id, Die Reifung des Amphibieneies und die Befruchtung unreifer Eier bei *Triton taeniatus*. *Anat. Anz.*, Bd. VII, 1892.

Id. Ueber Druckversuche an Froscheiern. *Anat. Anz.*, Bd. VIII, 1893.

BOVERI, Th. Zellen Studien, II. Die Befruchtung und Teilung des Eies von *Ascaris megalocephala*. Jena, 1888.

Id. Befruchtungs-und Entwicklungsfähigkeit Kernloser Seeigeleiern und über die Möglichkeit ihrer Bastardierung. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. II, 1896.

Id. Die Entwicklung von *Ascaris megalocephala* mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. *Festschr. f. C. Von Kupffer*, Jena, 1899.

BOVERI, Th. Zellen Studien, IV. Ueber die Natur der Centrosomen. Jena, 1900.

Id. Die Polarität von Ovocyte, Ei und Larve des *Strongylocentrotus lividus*. *Zool. Jahrb.*, Bd. XIV, 1901.

Id. Ueber den Einfluss der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd., XVI, 1901.

Id. Zellenstudien V. Ueber die Abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena, 1905.

Id. Zellenstudien VI. Die Entwicklung dispermer Seeigeleier. Jena, 1907.

Id. Ueber die Teilung centrifugierter Eier von *Ascaris megalocephala*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXX, 1910.

Id. Die Potenzen der Ascaris-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. *Festschr. f. R. Hertwig*, Bd. III. Jena, 1910.

Id. und STEVENS, N.-M., Ueber die Entwicklung dispermer Ascariseier. *Zool. Anz.*, Bd. XXVII, 1904.

* Id. und HOGUE, M.-J., Ueber die Möglichkeit Ascaris-Eier zur Teilung in zwei gleichwertige Blastomeren zu veranlassen. *Sitz. Ber. d. Phys. med. Ges.* Würzburg, 1909.

BOVERI, M. Ueber Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung. *Jen. Zeitschr. f. Naturw.*, Bd. XXXVII. 1903.

BRACHET, A. Recherches sur l'ontogenèse des Amphibiens Urodèles et Anoures. *Arch. de Biol.*, t. XIX, 1902.

Id. Sur les relations qui existent chez la grenouille entre le plan de pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, le premier plan de division et le plan de symétrie de la gastrula. *C. R. de l'Assoc. des Anatom.*, Liége, 1903.

Id. Recherches expérimentales sur l'œuf de *Rana fusca*. *Arch. de Biol.*, t. XXI, 1904.

Id. Gastrulation et formation de l'embryon chez les Chordés. *Anat. Anz.*, Bd. XXVII, 1905.

Id. Recherches expérimentales sur l'œuf non segmenté de *Rana fusca*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXII, 1906.

Id. La polyspermie expérimentale comme moyen d'analyse de la fécondation. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXX, 1910.

BRACHET, A. Recherches sur l'influence de la polyspermie expérimentale dans le développement de l'œuf de *Rana fusca*. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, 5e série, t. VI, 1910.

BRAUS, H. Ueber Zellteilung und Wachstum des Tritoneies mit einem Anhang über Amitose und Polyspermie. *Jen. Zeitschr. f. Naturwiss.*, Bd. XXIX, 1895.

CARNOY, J.-B. et LEBRUN, H. La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. *La Cellule*, t. XII, XIV, XVI, XVII, 1897-1900.

CASTLE, W. E. The heredity of sex. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, vol. XL, 1903.

Id. A mendelian view of sex heredity. *Science*, March. 1909.

* CHABRY, L. Embryologie normale et tératologique des Ascidies. *Thèse prés. à la fac. des Sc. de Paris*, 1887.

* CHUN, C. Die Ctenophoren des Golfes von Neapel. *Fauna und Flora d. Golfes v. Neapel.* I, 1880.

Id. Bemerkungen über den Aufsatz von *Driesch* und *Morgan*: von der Entwicklung einzelner Ctenophorenblastomeren. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

CLUNG, Mc. Note on the accessory chromosome. *Anat. Anz.*, Bd. XX, 1901.

COLUCCI. Sulla rigenerazione parziale dell'occhio nei Tritoni. *Zool. Jahresber.*, 1891.

CONKLIN, E. G. The embryology of *Crepidula*. *Journ. of Morph.*, vol. XIII, 1897.

Id. The individuality of the germ nuclei during the cleavage of the egg of *Crepidula*. *Biol. Bull.*, vol. II, 1901.

Id. Karyokinesis and Cytokinesis in the Maturation, Fertilization and Cleavage of *Crepidula* and other Gastropoda. *Journ. of Acad. nat. Sc.*, Philadelphia, vol. XII, 1902.

Id. Mosaïc development in Ascidian egg. *Journ. of exp. Zool.*, vol. II, 1905.

Id. Organforming substances in the egg of Ascidians. *Biol. Bull.*, vol. VIII, 1905.

Id. Does half of an Ascidian egg give rise to a whole larva ? *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXI, 1906.

Id. The effects of centrifugal force upon the organization and development of the eggs of fresch water Pulmonates. *Journ. of exp. Zool.*, vol. IX, 1910.

CORNIL. Sur le procédé de division indirecte des noyaux des cellules épithéliales dans les tumeurs. *Arch. de Physiol.*, 1886.

CRAMPTON, H. E. Experimental studies on gasteropod development. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. III, 1896.

Id. The Ascidian half embryo *Ann. of the N.-Y. Acad. of sc.*, vol. X, 1897.

DELAGE, Y. Les vrais facteurs de la parthénogenèse expérimentale. Élevage de larves parthénogénétiques jusqu'à la forme parfaite. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, 4e série, t. VII, 1908.

DEMOOR, J. Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule. Indépendance fonctionnelle du protoplasme et du noyau. *Arch. de Biol.*, t. XIII, 1894.

DOFLEIN, F. Karyokinese des Spermakerns. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. L, 1897.

Id, Zell und Protoplasmastudien. I. Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. *Zool. Jahrb.*, Bd. IV, 1900.

DRIESCH, H. Entwicklungsmechanische Studien I. Der Wert der beiden ersten Furchungszellen in den Echinodermenentwicklung. Experimentelle Erzeugung von Teil-und Doppelbildungen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. LIII, 1892.

Id. Entw.-Mech. Studien IV. Experimentelle Veränderung des Typus der Furchung und ihre Folgen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. LV, 1892.

Id. Entw.-Mech. Studien. V. Ueber die Furchung doppeltbefruchteter Eier. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. LV, 1892.

Id. Entw.-Mech. Studien VI. Die Verminderung des Furchungsmaterials und ihre Folgen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. LVI, 1893.

Id. Die Entwicklung einzelner Ascidienblastomeren. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. I, 1895.

Id. Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. IV, 1896.

Id. Die isolierten Blastomeren des Echinidenkeimes. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. X, 1900.

Id. Die organischen Regulationen. Leipzig, 1901.

DRIESCH, H. Studien zur Entwicklungsphysiologie der Bilateralität. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXI, 1906.

Id. Zur Theorie der organischen Symmetrie. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXVI, 1908.

Id. Die Entwicklungsphysiologie. *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch.*, Bd. XVII, 1909.

Id. und MORGAN, T. H. Zur Analysis der ersten Entwicklungsstadien des Ctenophoreneies I. Von der Entwicklung einzelner Ctenophorenblastomeren. II. Von der Entwicklung ungefurchteter Eier mit Protoplasmadefekten. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

ENDRES und WALTHER. Anstichversuche an Eiern von *Rana fusca*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1896.

ENDRES. Anstichversuche an Eiern von *Rana fusca*. IIe Teil. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1896.

ERDMANN, Rh. Experimentelle Untersuchungen der Massenverhältnisse von Plasma, Kern und Chromosomen in dem sich entwickelnden Seeigelei. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. II, 1908.

EYCLESHYMER, A. C. The early development of *Amblystoma* with observations on some other Vertebrates. *Journ. of Morph.*, vol. X, 1895.

Id. The location of the basis of the Amphibian embryo. *Journ. of Morph.*, vol. XIV, 1898.

Id. The formation of the embryo of *Necturus*, with remarks on the theory of concrescence. *Anat. Anz.*, Bd. XXI, 1902.

Id. Bilateral symmetry in the egg of *Necturus*. *Anat. Anz.*, Bd. XXV, 1904.

FICK, R. Ueber Reifung und Befruchtung des Axolotl-Eies. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. LVI, 1893.

FISCHEL, A. Experimentelle Untersuchungen am Ctenophorenei. I-IV. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. VI und VII, 1897-98.

Id. Ueber die Regeneration der Linse. *Anat. Anz.*, Bd. XIV, 1898.

Id. Weitere Mittheilungen über die Regeneration der Linse. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XV, 1902.

Id. Entwicklung und Organdifferenzierung. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XV, 1902.

FLEMMING, W. Morphologie der Zelle. *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch.*, Jahrg. 1897.

FOL, H. Recherches sur la fécondation et le commencement de l'hénogénie. *Arch. des Sc. phys. et nat.*, t. LXX, 1879.

Id. Sur l'origine de l'individualité chez les animaux supérieurs. *Arch. des Sc. phys. et nat.*, t. LXXIV, 1883.

GASCO. Nell' Axolotl lo sviluppo normale dell' uovo ed il sesso sono del tutto indipendenti dal numero di nemaspermi insinuatisi nella sfera vitellina. *Atti dell' XI Congr. med. internat.*, Roma, 1894.

GÉRARD, P. Recherches sur la spermatogenèse chez *Stenobothrus biguttulus*. *Arch. de Biol.*, t. XXIV, 1908.

GERASSIMOW, J. J. Die Abhängigkeit der Grösse der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. *Zeitschr. f. allgem. Physiol.*, Bd. I, 1892.

GODLEWSKI, Em.-Jun. Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden und Crinoïdenfamilie. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XX, 1906.

Id. Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äussere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XXVI, 1908.

GRIFFIN, B. B. Studies on the maturation, fertilization and cleavage of *Thalassema* and *Zirphaea*. *Journ. of Morph.*, vol. XV, 1899.

GRÖNROOS, H. Zur Entwicklungsgeschichte des Erdsalamanders (*S. Maculosa*). I. Fortpflanzung, Ovarialei, Furchung, Blastula. *Anat. Hefte*, Abt. I, Bd. VI, 1895.

GURWITSCH, A. Ueber Prämissen und austossgebende Faktoren der Furchung und Zellvermehrung. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. II, 1909.

VON HANSEMANN, D. Ueber Assymetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung. *Virchow's Arch.*, Bd. CXXIII, 1891.

HARPER, F. Fertilization in the Pigeon's egg. *Science*, 1902.

HENKING, H. Untersuchungen über die erste Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. III. Specielles und Allgemeines. (*Agelastica*, *Pyrrhocoris*, *Lasius*, *Tenebrio* etc.). *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XLIV, 1892.

HENNEGUY, F. Sur la formation de l'œuf, la maturation et la fécondation de l'oocyte chez le *Distomum hepaticum*. *C. R. Ac. des Sc. de Paris*, t. CXXXIV, 1902.

Id. Nouvelles recherches sur la division cellulaire indirecte. *Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, t. XXVII, 1891.

HERLA, V. Étude des variations de la mitose chez l'Ascaride mégalocéphale. *Arch. de Biol.*, t. XIII, 1895.

HERLANT, M. Sur le mécanisme de la fécondation et l'allure du développement dans les œufs de grenouille di-et trispermiques. *Bull. Soc. roy. d. Sc. med. et nat. de Bruxelles*, janvier 1910.

HERTWIG, O. Beiträge zur Kenntnis der Bildung; Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. *Morphol. Jahrb.*, Bd. I, III, und IV, 1875, 1877, und 1878.

Id. Urmund und Spina bifida. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XXXIX, 1892.

Id. Ueber den Wert der ersten Furchungszellen für die Organbildung des Embryo. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XLII, 1893.

Id. La Cellule et les Tissus (trad.franc.). Paris, 1894.

Id. Die Entwicklung des Froscheies unter dem Einfluss schwächerer und stärkerer Kochsalzlösungen. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLIV, 1895.

Id. Beiträge zur experimentellen Morphologie und Entwicklungsgeschichte IV. Ueber einige durch Centrifugalkraft in der Entwicklung des Froscheies hervorgerufene Veränderungen. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LIII, 1898.

Id. Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung von *Rana fusca* und *Rana esculenta*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LIII, 1898.

Id. Die Lehre von den Keimblättern. *Handb. d. vergl. u. exp. Entwicklungsgesch d. Wirbeltiere*. Jena 1903.

Id. Allgemeine Biologie. Jena 1909..

HERTWIG, O. und R. Ueber die Befruchtungs-und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss aüssere Agentien. *Jen. Zeitschr. f. Naturwiss.*, Bd. XX. 1887.

HERTWIG, R. Ueber die Wechselverhältniss von Kern und Protoplasma. *Sitz. Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol.*, München, 1903.

HERTWIG, R. Ueber Korrelation von Zell-und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. *Biol. Centralbl.* Bd. XXIII, 1903.

Id. Eireife und Befruchtung, Furchungsprocess. *Hand. d. Vergl. u. exp. Entwicklungsgesch. d. Wirbeltiere*, Jena, 1903.

Id. Ueber neue Probleme der Zellenlehre. *Arch. f. Zellforsch.* Bd. I, 1908.

HOGUE, M. J. Ueber die Wirkung der Centrifugalkraft auf die Eier von *Ascaris megalocephala. Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXIX, 1910.

IKEDA, S. Contributions to the embryology of Amphibia. The mode of blastopore closure and the position of the embryonic body. *Journ. of. Coll. of. Sc.*, Imp. Univ. Tokyo, vol. XVII, 1902.

IWANZOFF, N. Ueber die physiologische Bedeutung des Process der Eireifung. *Bull. Sc. imp. d. Sc. Nat. de Moscou*, t. XI, 1897.

JENKINSON. J. W. Observations on the maturation and fertilization of the egg of the Axolotl. *Quart. Journ. ofmicr. Sc.* vol. XLVIII, 1905.

Id. On the effect of certain solutions upon the development of the frog's egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXI, 1905.

JORDAN and EYCLESHYMER, The cleavage of Amphibianovum. *Anat. Anz.*, Bd. VII, 1892.

Id. On the cleavage of Amphibianova. *Journ. of morph.*, vol. IX, 1894.

KATSCHENKO, Zur Frage über die Herkunft der Dotterkerne im Selachierei. *Anat. Anz.* Bd. III, 1888.

Id. Zur Entwicklungsgeschichte des Selachier embryos.

KATHARINER, L. Ueber die bedingte Unabhängigkeit der Entwicklung des polar differenzierten Eies von der Schwerkraft. *Arch. f. Entw. mech.*, Bd. XII, 1901.

Id. Weitere Versuche über die Selbstdifferenzierung des Froscheies. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XIV, 1902.

Id. Schwerkraftswirkung oder Selbstdifferenzierung. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XVIII, 1904.

KING, H. D. The maturation and fertilization of the egg of *Bufo lentiginosus*. *Journ. of Morph.*, vol. XVII, 1901.

d. Experimental studies on the formation of the embryo of *Bufo lentiginosus*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XIII, 1902.

Id. The effects of compression on the maturation and early development of the eggs of *Asterias Forbesii*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXI, 1906.

KONOPACKA, B. Die Gestaltungsvorgänge der in verschiedenen Entwicklungsstadien centrifugierten Froschkeime. *Bull. Acad. d. Sc. d. Cracovie*, juillet 1908.

KOPSCH, F, Ueber das Verhaltnis der embryonalen Axen zu den drei ersten Furchungsebenen beim Frosch. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. XVII, 1900.

KORSCHELT u. HEIDER. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Wirbellosen Tiere. (Allgem. Teil. I.) Jena, 1902.

KOSTANECKI, K. Ueber die Gestalt der Centrosomen im befruchteten Seeigelei. *Anat. Hefte*, I^e Abt., Bd. VII, 1896.

Id. Ueber die Reifung und Befruchtung des Eies von *Cerebratulus marginatus*. *Bull. de l'Ac. des Sc.*, Cracovie, 1902.

Id. Ueber die Herkunft der Teilungszentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LXVIII, 1906.

Id. Zur Morphologie der künstlichen parthenogenetischen Entwicklung bei *Mactra*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LXXVI, 1908.

d. Mitotische Kernteilung ohne Zellteilung in künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von *Mactra*. *Bull. d. l'Ac. des Sc.*, Cracovie, 1908.

Id. und WIERZEJSKI. Ueber das Verhalten der sog. achromatischen Substanzen im befruchteten Ei. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLVII, 1896.

KUPELWIESER, H. Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXVII, 1909.

VON KUPFFER. C. Aktive Beteiligung des Dotters am Befruchtungsakt bei *Bufo*. *Sitzb. d. Akad. d. Wiss.*, München 1882.

LAMS, H. Recherches sur l'œuf d'*Arion empiricorum*. *Mém. Ac. r. des Sc. de Belg.*, 2e s., t. II, 1910.

LAMS, H. Recherches sur l'œuf de Cobaye. *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, Bruxelles, 1910.

LEWIS, D. H. Experimental studies on the development of the eye in Amphibia. *Amer. Journ. of Anat.*, vol. III, 1904.

LILLIE, F. R. The organisation of the egg of *Unio* based on a study of its maturation, fertilisation and cleavage. *Journ. of morph.*, vol. XVII, 1901.

Id. Observations and experiments concerning the elementary phenomena of embryonic development in *Chaetopterus*. *Journ. of exp. zool.*, vol. III, 1906.

Id. Polarity and bilaterality of the Annelid egg. Experiments with centrifugal force. *Biol. Bull.*, vol. XVI, 1909.

LOEB, J. Investigations in physiological morphology. III. Expriments on cleavage. *Journ. of morph.*, vol. VII, 1892.

Id. Ueber Kernteilung ohne Zellteilung. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1896.

Id. On the nature of the process of fertilization and the unfertilized eggs of the sea-urchin. *Am. Journ. of Physiol.*, vol. III, 1899.

LOEB, J., FISCHER, M. und NELSON, H., Weitere Versuche über künstliche Parthenogenese. *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. LXXXVII, 1901.

Id. La dynamique des phénomènes de la vie. Trad. fr., Paris, 1908.

MAAS, O. Experimentelle Untersuchungen über die Eifurchung. *Sitzt. Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol.*, München, 1901.

MARCHAL, El. et Em. Aposporie et Sexualité chez les Mousses. *Bull. Ac. r. de Belg.*, cl. des Sc., 1907 et 1909.

MARCUS, H. Ueber die Wirkung der Temperatur auf die Furchung bei Seeigeleiern. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXII, 1906.

MASSART, J. Sur l'irritabilité des spermatozoïdes de grenouille. *Ac. r. de Belg.*, *Bull.*, 3e série, t. XV, 1888.

Id. Sur la pénétration des spermatozoïdes dans l'œuf de grenouille. *Ac. r. des Sc. de Belg.*, *Bull.*, 3e s., t. XVIII, 1889.

MEAD, A. D The Origin and behavior of the centrosomes in the Annelid egg. *Journ. of Morph.*, vol. XIV, 1898.

MEVES, F. Ueber eine Metamorphose des Attractionssphären in den Spermatogonien von *Salamandra Maculosa. Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLIV, 1894.

Id. Ueber die Frage, ob die Centrosomen *Boveris* als allgemeine und dauernde Zellorgane aufzufassen sind. *Anat. Anz.*, Bd. XXI, 1902.

MICHAËLIS, L. Die Befruchtung des Triton-Eies *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLVIII, 1897.

MULLER. Ueber Celluläre Vorgängen in Geschwülste. *Virchow's Arch.*, Bd. CXXX, 1892.

MONTGOMERY, Th. H. On the maturation, mitoses and fertilization of the egg of *Theridium. Zool. Jahrb.*, Abt. f. Anat., Bd. XXV, 1908.

MORGAN, T. H. The formation of the embryo of the frog. *Anat. Anz.*, Bd. IX, 1894.

Id. Experimental studies on Echinoderm eggs. *Anat. Anz.*, Bd. IX, 1894.

Id. A study of a variation in cleavage. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

Id. Experimental studies of the blastula-and gastrulastages of *Echinus. Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

Id. Studies on the partial larvae of *Sphaerechinus. Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

Id. Half embryos and whole embryos from one of the first two blastomeres of the frog's egg. *Anat. Anz.*, Bd. X, 1895.

Id. The production of artificial astrosphaeres. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. III, 1896.

Id. The fertilization of non nucleated fragments of Echinoderm eggs. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. III, 1896.

Id. Regeneration in the egg, embryo and adult. *The Amer. Naturalist.*, vol. XXXV, 1901.

Id. The relation between normal and abnormal development of the embryo of the frog. I. As determined by injury of the yolk portion of the egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XV, 1902.

Id. The dispensability of gravity in the development of the toad's egg. *Anat. Anz.*, Bd. XXI, 1902.

MORGAN, T. H. The gastrulation of the partial embryos of *Sphaerechinus*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVI, 1903.

Id. The relation between etc. III. As determined by some abnormal forms of development. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVIII, 1904.

Id. The relation between etc. VI. As determined by incomplete injury to one of the first two blastomeres. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XIX, 1905.

Id. The relation between etc. VIII. As determined by injury caused by a low temperature. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XIX, 1905.

Id. The relation etc. IX. As determined by insufficient aeration. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XIX, 1905.

Id. The influence of a strong centrifugal force on the frog's egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXII, 1906.

Id. Experiments with frog's eggs. *Biol. Bull.*, vol. XI, 1906.

Id. The origin of the organ forming materials in the frog's embryo. *Biol. Bull.*, vol. XI, 1906.

Id. The location of embryoforming regions in the egg. *Science*, vol. XXVIII, 1908.

Id. A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. *Journ. of exp. Zool.*, vol. VII, 1909.

Id. and TSUDA, U. The orientation of the frog's egg. *Quart. Journ. of micr. Sc.*, vol. XXXV, 1894.

Id. and BORING, Al. The relation of the first plan of cleavage and the grey crescent to the median plane of the embryo of the frog. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVI, 1903.

Id. and TORELLE, E. The relation between etc. IV. As determined by *Roux*'s experiment of injuring the first formed blastomeres of the frog's egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVIII, 1904.

Id. and LYON, E. P. The relation of the substances of the egg separated by a strong centrifugal force to the location of the embryo. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. XXIV, 1907.

Id. and SPOONER, G. B. The polarity of the centrifuged egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXVIII, 1909.

MORGAN, T. H. PAYNE, F. and BROWNE, E. N. A method to test the hypothesis of selective fertilisation. *Biol. Bull.*, vol. XVIII, 1910.

MOSZKOWSKI, M. Ueber die Wirkung der Schwerkraft auf die Entstehung und Erhaltung des bilateral-symetrischen Aufbaus des Froscheies *Arch. f. mikr. Anat.* ,Bd. XL, 1901.

Id. Zur Analysis der Schwerkraftswirkung auf die Entwicklung des Froscheies. *Arch. mikr. Anat.*, Bd, LXI, 1902.

Id. Ueber den Anteil der Schwerkraft an der Entwicklung des Froscheies mit besonderer Berücksichtigung der jüngsten Experimente *Kathariners. Verh. d. Anat. Ges.*, 1903.

MÜLLER, Er. Ueber die Regeneration der Augenlinse nach Extirpation derselben bei *Triton. Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XLVII, 1896.

NEKRASSOF. Analyse der Reifungs-Befruchtungsprozesse des Eies *Cymbulia. Arch. f. mik. Anat.*. Bd. LXXIII, 1909.

NEWPORT, G. On the impregnation of the ovum in the Amphibia. *Philos. Trans.*, 1851.

NICOLAS, A. Recherches sur l'embryologie des Reptiles. *Arch. d'An. micr.*, t. III, 1900.

Id. Recherches sur l'embryologie des Reptiles. *C. R. Soc. de Biol.* Paris, 1903.

Id. Recherches sur l'embryologie des Reptiles. *Arch. de Biol.* t. XX, 1904.

NORMANN, W. W. Segmentation of the nucleus without segmentation of the protoplasma. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. III, 1896.

OPPEL, A. Die Befruchtung des Reptilieneies. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XXXIX, 1892.

PATTERSON. Studies on the early development of the hen's egg. *Journ. of. Morph.*, vol. XXI. 1910.

PETRUNKEWITSCH, A. Künstliche Parthenogenese. *Zool. Jahrb.*, Suppl. VII, 1904.

PFLÜGER, E. Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. *Arch. f. d. Ges. Physiol.*, Bd. XXIX, 1881.

PFLÜGER, E. Ueber den Einfluss der Schwerkraft auf die Teilung der Zellen und die Entwicklung des Embryo. *Arch. f. d. Ges. Physiol.*, Bd XXXI, XXXII und XXXIV, 1883-1884.

PIANESE, Beitrag zur Histologie und Aetiologie des Karzinoms. *Ziegler's Beitr.*, 1896.

PRENANT, A. Les cellules géantes. *Rev. gén. des Sc.* t. XXI, 1910.

ROUX, W. Ueber die Zeit der Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryo. Leipzig, 1883, und *Ges. Abh.*, Bd. II. n° 16, Leipzig, 1895.

Id. Ueber die Bestimmung der Hauptrichtungen des Froschembryo im Ei und die ersten Teilungen des Froscheies. *Bresl^r ärztl. Zeitschr.*, 1885, und *Ges Abh.*, Bd. II, n^r 20, 1895.

Id. Zur Orientierung über einige Probleme der embryonalen Entwicklung. *Zeitschr. f. Biol.*, Bd. XXI, 1885, und *Ges. Abh.*, Bd. II, S. 144.

Id. Die Bestimmung der Medianebene des Froschembryo durch die Copulationsrichtung des Eikernes und des Spermakernes. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XXIX, 1887, und *Ges. Abh.*, Bd. II., S. 344.

Id. Ueber die künstliche Hervobringung «halber» Embryonen durch Zerstörung einer der beiden ersten Furchungszellen, sowie über Nachentwicklung (Postgeneration) der fehlenden Körperhälfte. *Virchow's Arch.*, Bd. CXIV, 1888, und *Ges. Abh.* Bd. II, n^r 22.

Id. Ueber das entwicklungsmechanische Vermögen jeden der beiden ersten Furchungszellen des Eies. *Verh. Anat. Ges.*, Wien 1892 und *Ges. Abh.*, n^r 26, IIe Bd.

Ueber Mosaïkarbeit und neuere Entwicklungshypothesen. *Anat. Hefte*, 1893 und *Ges. Abh.*, Bd. II, n^r 27.

Id. Ueber die ersten Teilung des Froscheies und ihre Beziehungen zur der Organbildung des Embryo. *Anat. Anz.*, Bd. VIII, 1893 und *Ges. Abh.* Bd. II, n^r 29.

Id. Ueber die verschiedene Entwicklung isolierter erster Blastomeren. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. I, 1895.

Id. Gesammelte Abhandlungen über Entwicklungsmechanik der Organismen. Leipzig, 1894-95.

Id. Berichtigungen zu *O. Schultze*'s Arbeit: Ueber das erste Auftreten der bilateralen Symmetrie im Verlaufe der Entwicklung. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. IX, 1900.

ROUX, W. Die Nichtnöthigsein der Schwerkraft für die Entwicklung des Froscheies. *Arch. f. Entw.Mech.*, Bd. XIV, 1902.

Id. Ueber die Ursachen der Bestimmung der Hauptrichtungen des Embryo im Froschei. *Anat. Anz.*, Bd. XXIII, 1903.

RÜCKERT, J. Ueber physiologische Polyspermie bei meroblastischen Wirbeltiereiern. *Anat. Anz.*, Bd. VII, 1892.

Id. Die erste Entwicklung des Eies der Elasmobranchier. *Festschr. f. C. von Kuppfer*, 1899.

Id. Ueber Polyspermie, *Anat. Anz.*, Bd. XXXVII, 1910.

RUFFINI, A. Contributo alla conoscenza della ontogenesi degli Anfibi anuri e urodeli. *Anat. Anz.*, Bd. XXXI, 1907.

SACHS, J. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 1882.

SALA, L. Experimentelle Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Eies bei *Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLIV, 1895.

SCHULZ, A. Zur Entwicklungsgeschichte des Selachiereies. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XII, 1875.

SCHULTZE, O. Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XLV, 1887.

Id. Ueber Achsenbestimmung des Froschembryo. *Biol. Centralbl.*, Bd. VII, 1888.

Id. Die künstliche Erzeugung von Doppelbildungen be-Froschlarven mit Hilfe abnormer Gravitations Richi tung. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. I, 1895.

Id. Ueber das ersten Auftreten der bilateralen Symetrie im Verlauf der Entwicklung. *Arch. f. mikr, Anat.*, Bd. LV, 1899.

SCOTT, J. W. Morphology of the parthenogenetic development of Amphitrite. *Journ. of exp. Zool.*, vol. III, 1905.

SPEMANN, H. Ueber Correlation in die Entwicklung des Auges. *Anat. Anz.*, Bd. XIX, 1901.

Id. Ueber Linsenbildung bei defekter Augenblase. *Anat. Anz.*, Bd. XXIII, 1903.

ZUR STRASSEN, O. L. Embryonalentwicklung der *Ascaris megalocephala. Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. III, 1896.

SUTTON, W. The chromosomes in heredity. *Biol. Bull.*, vol. IV, 1903.

TEICHMANN, E. Ueber die Beziehung zwischen Astrosphären und Furchen. Experimentelle Untersuchungen am Seeigelei. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVI, 1903.

VAN DER STRICHT, O. La maturation et la fécondation de l'œuf d'*Amphioxus lanceolatus*. *Bull. Ac. r. de Belg.*, 1895.

Id. La formation des deux globules polaires et l'apparition des Spermocentres dans l'œuf de *Thysanozoon Brocchii*. *Arch. de Biol.*, t. XV, 1897.

VOGT, W. Ueber rückschreitende Veränderungen von Kernen und Zellen junger Entwicklungsstadien von *Triton cristatus*. *Sitz-Ber. d. Ges. zur Beförderung d. ges. Naturwiss. zu Marburg*, 1909.

* WATASE, L. Origine of the centrosom. *Biol. lect. Woods Hall*, 1894.

WETZEL, G. Ueber die Bedeutung der circuläre Furche in die Entwicklung der *Schultze'* schen Doppelbildungen von *Rana fusca*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLVI, 1895.

* Id. Beitrag zum Studium der künstlichen Doppelmissbildungen von *Rana fusca*. Inaug. Diss., Berlin, 1896.

WILSON, Edm. B. Experimental studies in Cytology. I. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XII, 1900. II and III, Bd. XIII, 1901.

Id. Experiments on cleavage and localisation in the Nemertine egg. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVI, 1903.

Id. Experimental studies on germinal localization. I. The germ-regions in the egg of *Dentalium*. II. Experiments on the cleavage mosaic in *Patella* and *Dentalium*. *Journ. of exp. Zool.*, vol. I, 1904.

Id. Studies on chromosomes. I, II, III. *Journ. of exp. Zool.*, vol. II, 1905, and III, 1906.

Id. and MATTHEWS. Maturation, fertilization and polarity in the Echinoderm egg. *Journ. of Morphol.*, vol. X, 1895.

WOLFF, G. Entwicklungsphysiologische Studien. I. Die Regeneration der Urodelenlinse. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. I, 1895.

YATSU, N. The formation of centrosomes in enucleated eggfragments. *Journ. of exp. Zool.*, vol. II, 1905.

Id. Some experiments on cell division in the egg of *Cerebratulus lacteus*. *Annot. zool. Jap.*, vol. VI, 1908. Ref. in *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. II, 1909.

ZELENY, Ch. Experiments on the localisations of developmental factors in the Nemertine egg. *Journ. of exp. Zool.*, vol. I, 1904.

* ZIEGLER, H.-E. Ueber das Verhalten des Kernes im Dotter der meroblastischen Wirbeltiere. *Festschr. f. Weismann*, 1894.

* Id. Ueber Furchung unter Pressung. *Verh. d. Anat. Ges.*, Strasbourg, 1894.

Id. Experimentelle Studien über die Zellteilung. II. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. VI, 1898.

Id. Experimentelle Studien über die Zellteilung. IV. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVI, 1903.

ZOJA, R. Untersuchungen über die Entwicklung der *Ascaris megalocephala*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLVII, 1896.

II. — Liste de quelques travaux qui ne sont pas spécialement cités dans le texte, mais où le lecteur trouvera des références sur la plupart des questions traitées.

VAN BAMBEKE, Ch. Le sillon médian ou raphé gastrulaire du Triton alpestre. *Arch. de Biol.*, t. XIII, 1893.

BARFURTH, D. Ueber die organbildenden Keimbezirke und künstlichen Missbildungen des Amphibieneies. *Anat. Hefte*, IX, 1893.

Id. Halbbildung oder Ganzbildung von halber Grösse? *Anat. Anz.*, Bd. VIII, 1893.

VAN BENEDEN, Ed. et NEYT, A. Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'Ascaride mégalocéphale. *Bull. Ac. r. de Belg.*, série 4, t. XIV, 1887.

BOVERI, Th. Das Problem der Befruchtung. Jena, 1902.

BRACHET, A. Les idées actuelles sur la potentialité des blastomères. *Ann. de la Soc. r. zool. de Belg.*, t. XLII. 1907.

Mc CLENDON, J. F. Cytological and chemical studies of centrifuged frog's eggs. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. XXVII, 1909.

DELAGE, Y. Etudes sur la Mérogonie. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, s. 3, t. III, 1899.

Id. Etudes expérimentales sur la maturation cytoplasmique et sur la parthénogenèse artificielle chez les Echinodermes. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, 3e s., t. IX, 1901.

DRIESCH, H. Zur Cytologie partenogenetischer Larven von *Strongylocentrotus*. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XIX, 1905.

DUNCKER, G. Symmetrie und Asymmetrie bei bilateralen Tieren. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. XXII, 1904.

DUSTIN, A. P. Recherches sur l'origine des gonocytes chez les Amphibiens. *Arch. de Biol.*, t. XXIII, 1906.

VON EBNER, T. Die aüssere Furchung des Tritoneies und ihre Beziehungen zu den Hauptrichtungen des Embryo. *Festschr. f. Al. Rollet*, Jena, 1893.

ERLANGER, R. Zur Blastoporusfrage bei den anuren Amphibien. *Anat. Anz.*, Bd. VI, 1891.

ERRERA, L. Cellules végétales plurinucléées. *Bull. Soc. Belge de Micr.*, t. VII, 1881.

* GARBOWSKI, T. Ueber die Polarität des Seeigeleies. *Bull. d l'Ac. des Sc. de Cracovie*, 1905.

GODLEWSKI, Em. Jun. Das Vererbungs-problem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. Leipzig, 1909.

HAMECHER, F. Jun. Ueber die Lage des kopfbildenden Teils etc. bei *Rana Fusca*. *Internat. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. XXI, 1904.

HEFFNER, B. Ueber experimentelle erzeugte Mehrfachbildungen des Skelets bei Echinidenlarven. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXVI, 1908.

HENNEGUY. F. Leçons sur la cellule. Paris 1896.

HERLITZKA, A. Contributo allo studio della capacita evolutiva dei due primi blastomeri nell'uovo di Tritone. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. II, 1895.

Id. Sullo sviluppo dei embrioni completi da blastomeri isolati di uova di tritone. *Arch. f. Entw. Mech.* Bd. IV, 1896.

HERTWIG, O. Die Entwicklung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. *Jen. Zeitschr. f. Naturw.* Bde. XV und XVI, 1882-1883.

Id. Welchen Einfluss übt die Schwerkraft auf die Teilung der Zellen. *Jen. Zeitschr. f. Naturwiss.* Bd. XVIII, 1885.

Id. Ueber Wesen und Bedeutung der Befruchtung. *Sitz-Ber. d. K. bayer. Akad. d. Wiss.*, Bd. XXXII, 1902.

Id. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere. 9e Aufl., Jena 1910.

HERTWIG, O. Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. *Sitz. Ber. d. Königl. pr. Akad. d. Wiss.*, Berlin 1910. I und II.

HUBRECHT, Die Gastrulation der Wirbeltiere. *Anat. Anz.*, Bd. XXVI, 1905.

KOPSCH, Fr. Beiträge zur Gastrulation beim Axolotl-und Froschei. *Verh. d. Anat.* Ges., 1895.

LAQUEUR, E., Ueber Teilbildungen aus dem Froschei und ihre Postgeneration. *Arch.f.Entw.Mech.*, Bd, XXVIII, 1909.

LOEB, J. Beiträge zur Entwicklungsmechanik der aus einem Ei entstehenden Doppelbildungen. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. I, 1895.

Id. Zusammenstellung der Ergebnisse einiger Arbeiten über Dynamik des tierischen Wachstums. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XV, 1903.

MORGAN, T. H. Polarity considered as a phenomenon of gradation of materials. *Journ. of exp. Zool.*, vol. II, 1905.

Id. The effect of centrifuging the eggs of the mollusc *Cummingia. Science*, vol. XXVII, 1908.

Id. The effects of altering the position of the cleavage planes in egg with precocious specification. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXIV, 1910.

MOSZKOWSKI, M. Zur Frage des Urmundschlusses bei *Rana fusca. Arch. f. Mikr. Anat.*, Bd. LX, 1904.

NEWMANN. Further Studies on the process of heredity in Fundulus hybrids. *Journ. of exp. Zool.*, vol. VIII, 1910.

RAUBER, A. Furchung und Achsenbildung bei Wirbeltieren. *Zool. Anz.*, Bde. VI und IX, 1883, 1886.

SCHAPER, A. Experimentelle Studien an Amphibienlarven. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd VI, 1898.

SCHULTZE, O. Ueber die Eintwirkung niederer Temperaturen auf das Froschei. *Anat. Anz.*, Bd. XVI, 1899.

Id. Zur Frage von der Bedeutung der Schwerkraft für die Entwicklung des tierischen Embryos. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LVI, 1900.

SPEMANN, H. Entwicklungsphysiologische Studien am Triton Ei. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bde. XII, XV, XVI, 1901, 1902 und 1903.

STEVENS, N. M. The effect of ultra-violet light upon the developing eggs of *Ascaris megalocephala. Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXVII, 1909.

TODD, A. H. Results of injuries to the blastopore region of the frog's embryo. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVIII, 1904.

TONKOFF. Experimentelle Erzeugung von Doppelbildungen bei *Triton. Sitz. Ber. d. Kön. pr. Akad. d. Wiss.*, Berlin, 1900.

VAN DER STRICHT, O. Contribution à l'étude de la sphère attractive. *Bull. Ac. r. de Belg.*, 1892.

WETZEL, G. Zentrifugierversuche an unbefruchteten Eiern von *Rana fusca. Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LXIII, 1904.

WILSON, H. V. Formation of the blastopore in the frog's egg. *Anat. Anz.*, Bd. XVIII, 1900.

Id. The closure of the blastopore in the normally placed frog's egg. *Anat. Anz.*, Bd. XX, 1902.

WILSON, Edm. B. Amphioxus and the Mosaïc theory of development. *Journ. of Morph.*, vol. VIII, 1893.

Id. On cleavage mand osaïc-Work. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. III, 1896.

Id. Mosaïc developement in the Annelid egg. *Journ. of exp. Zool.*, vol. I, 1904.

Id. The cell in developement and inheritance. New-York, 1906.

ZIEGLER, H.-E. Experimentelle Studien über die Zellteilung. II. Furchung ohne Chromosomen. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. VI, 1898.

Id. Lehrbuch der Vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena, 1902.

ZIEGLER, K. Zur Postgenerationsfrage. *Anat. Hefte*. LXI, 1901.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Planche VIII.

Fig. 1. — Coupe horizontale passant tout près du pôle supérieur d'un œuf dispermique fixé 1 h. 1/2 après la fécondation. [1] A gauche de la figure, la fossette germinative et 2 globules polaires.

Fig. 2. — Même œuf ; coupe horizontale passant par le tiers supérieur de l'hémisphère pigmenté ; à gauche, au milieu des grains de pigment, le pronucleus femelle ; deux accumulations de pigment à l'écorce indiquent les points de pénétration des deux spermatozoïdes.

Fig. 3. — Même œuf ; pronucleus femelle grossi. (environ 500-600 diamètres)

Fig. 4. — Même œuf ; coupe horizontale passant un peu en dessous de la précédente et montrant la coupe des deux traînées pigmentaires spermatiques et le début de la zône de condensation protoplasmique qui entoure chacune d'elles

Fig. 5. — Même œuf ; coupe passant par le tiers inférieur de l'hémisphère supérieur ; les deux pronuclei mâles ont été reportés sur un même niveau par une reconstitution de 7 coupes de 10 microns d'épaisseur.

Fig. 6. — Même œuf ; pronucleus mâle et partie centrale de l'énergide spermatique.

Fig. 7. — Reconstitution du même œuf sur un plan vertical.

Fig. 8. — Œuf trispermique fixé en Mars 1909, 2 h. après la fécondation, grossi environ 60 diam. (reconstitution de 39 coupes horizontales).

---

[1] Le mot « fécondation » est toujours pris ici dans le sens d'« imprégnation » artificielle des œufs par le liquide spermatique.

FIG. 9. — Œuf dispermique fixé 2 h. 1/2 après la fécondation ; le pronucleus femelle est accolé au pronucleus mâle dont l'énergide est la plus petite (reconstitution de 34 coupes horizontales).

FIG. 10. — Œuf trispermique au même stade, fixé 2 h. 3/4 après la fécondation (reconstitution de 10 coupes horizontales)

FIG. 11. — Œuf dispermique fixé 3 h. après la fécondation (reconstruction de 13 coupes horizontales).

FIG. 12. — Œuf dispermique fixé 4 h. après la fécondation (Matériel de 1909), et montrant les débuts de la 2e division (reconstitution de 2 coupes horizontales).

FIG. 13. — Œuf trispermique au même stade, fixé 3 h. 3/4 après la fécondation (figure réelle).

FIG. 14. — Œuf trispermique fixé 4 h. 1/2 après la fécondation, et se préparant à la 2e division (reconstitution de 47 coupes horizontales).

FIG. 15. — Œuf dispermique fixé 4 1/2 après la fécondation (récolte de Mars 1910.) L'œuf est divisé en 6 et se prépare à la 3e division. Reconstitution de 34 coupes horizontales. L'œuf est figuré en entier planche IV, Fig. 59.

FIG. 16. — Morula provenant d'un œuf dispermique et âgée de 9 1/2 h. (Figure réelle).

FIG. 16*a*. — Cellule provenant d'une morula dispermique de 8 heures (reconstitution de 11 coupes).

FIG. 17. — Morula âgée de 10 h. 1/2 et provenant d'un œuf dispermique. (1909. Fig. réelle).

FIG. 18. — Jeune blastula âgée de 19 h. et provenant d'un œuf trispermique (1910).

FIG. 19 — Reconstitution de 27 coupes passant par un groupe de trois petites cellules d'un œuf dispermique fixé 6 h. après la fécondation.

FIG. 20. — Cellule d'une morula dispermique de 12 heures. Reconstitution de 5 coupes.

FIG. 21. — Un des trois blastomères d'un œuf trispermique fixé 8 h. après la fécondation. Reconstitution de 54 coupes.

FIG. 22. — Cellule d'une morula dispermique de 12 heures. Reconstitution de 4 coupes.

FIG. 23. — Groupe formé d'une cellule trinucléée et d'une cellule mononucléée, provenant d'une morula trispermique de 14 h., (Figure réelle).

FIG. 23*a*. — Cellule provenant d'une morula dispermique de 8 h. Reconstitution de 7 coupes.

PLANCHE IX.

FIG. 24. — Mitose du noyau de segmentation d'un œuf dispermique, dess. à la chambre claire, obj. Leitz, imm. homog. $^1/_{12}$ e., t. 15,5 ctm.

FIG. 25. — Mitose du noyau spermatique du même œuf. Même grossissement.

FIG. 26. — (*) Œuf trispermique de 2 h. $^1/_2$.

FIG. 27. — (*) Œuf dispermique de 2 h., avec énergides spermatiques fortement inégales.

FIG. 28. — (*) Idem. énergides spermatiques égales.

FIG. 29. — (*) Œuf trispermique âgé de 4 h. et montrant, à gauche, une traînée pigmentaire spermatique coudée à 80°.

FIG. 30. — (*) Œuf trispermique divisé en trois.

FIG. 31. — (*) Œuf dispermique âgé de 4 heures et se préparant à la 2e division.

FIG. 32. — Ébauches génitales d'un embryon trispermique âgé de 54 jours, dess. à la chambre claire, obj. Leitz, n° 7.

FIG. 33. — Embryon dispermique de 7 jours, gr. 10 fois.

FIG. 34. — Idem, âgé de 93 jours, gr. 5 fois.

FIG. 35. — Idem : détail de la région buccale.

FIG. 36. — Embryon trispermique de 12 jours, gr. 10 fois.

FIG. 37. — Embryon dispermique de 14 jours, gr. 10 fois.

FIG. 38. — Embryon trispermique de 10 jours, gr. 10 fois.

FIG. 39. — Coupe transversale d'une gastrula trispermique, suivant le trait pointillé indiqué sur la fig. 47, pl. III, qui est la reconstitution de la même en coupe sagittale.

FIG. 40. — Grosse cellule en voie de nécrose, enclavée dans des tissus sains. Embryon trispermique de 92 h.

FIG. 41. — Groupe de cellules analogues.

(*) Microphotographie.

PLANCHE X.

FIG. 42. — Portion d'un territoire insegmenté chez une blastula de 23 h., provenant d'un œuf polyspermique (pièce communiquée par M. Brachet). Dissémination des centres, etc. (1).

FIG. 43. — Polycaryon en voie de dégénérescence et d'encystement.

FIG. 44. — Coupe transversale passant par la région antérieure du tronc d'un embryon « partiel » de 72 heures.

FIG. 45. Reconstitution en coupe sagittale d'une gastrula provenant d'un œuf trispermique, âgé de 26 heures.

FIG. 46. — Idem d'une gastrula dispermique de 28 heures, où une plaque de nécrose a empêché la formation de l'invagination archentérique.

FIG. 47. - Idem d'une gastrula trispermique avec une volumineuse partie nécrosée en voie d'élimination. Le trait pointillé indique le plan de la coupe représentée, pl. II, fig. 39.

FIG. 48. — Jeune embryon trispermique âgé de 52 heures, reconstitution en coupe sagittale.

FIG. 49. — Reconstitution en coupe sagittale d'une blastula trispermique de 19 heures.

FIG. 50. — Idem d'une blastula dispermique de 18 heures.

FIG. 51. — Coupe sagittale d'une blastula trispermique de 19 heures.

FIG. 52. — Coupe transversale d'un embryon trispermique de 92 heures avec élimination de parties nécrosées.

FIG. 53. — Deux mitoses avec entrecroisement des irradiations centrosomiales.

FIG. 54. — Partie d'un territoire non segmenté chez une blastula trispermique âgée de 21 heures, montrant une trainée de pigment qui indique la position occupée par la mitose en chaine dont proviennent les noyaux.

FIG. 55. — Deux petits amas de plaquettes vitellines, entourées d'une membrane de tissu conjonctif, provenant d'un embryon trispermique âgé de 15 jours.

(1) Ces phénomènes se présentent exactement sous le même aspect chez les œufs di- ou trispermiques.

FIG. 57. — Polycaryon abandonné par les centrosomes, dont un se divise pour son propre compte et a édifié un fuseau achromatique. Obj. Leitz imm. homog $^1/_{12}$ chambre claire.

FIG. 78. — Œuf trispermique âgé de 10 h. $^1/_2$ et où la segmentation s'est arrêtée.

FIG. 79. — Cellule de la voûte d'une blastula trispermique montrant deux noyaux accolés et 4 centrosomes. Même gr. que fig. 57.

FIG. 80. — Fragment d'une blastula trispermique de 19 heures, représentant à un fort grossissement la pointe du croissant formé par la partie segmentée à la surface du syncytium. Même grossissement.

FIG. 81. — Figure achromatique polycentrique. Reconstitution de 2 coupes, dessinées au même grossissement.

FIG. 82. — Coupe transversale dans la région moyenne du tronc de l'embryon trispermique représenté en entier, fig. 73. Obj. Leitz, n° 3.

FIG. 83. — Deux groupes de noyaux du système nerveux central d'un embryon trispermique de 30 jours, à droite et à gauche du canal épendymaire.

FIG. 84. — Coupe transversale passant par la partie moyenne du tronc d'un embryon trispermique de 77 heures.

FIG. 85. — Idem d'un embryon trispermique de 92 heures.

PLANCHE XI (1).

FIG. 58. — Œuf mono-ou dispermique lors de la première division.

FIG. 59. — Deuxième division d'un œuf dispermique.

FIG. 60. — Le même œuf vu par son pôle blanc pour montrer le croissant gris.

FIG. 61. — Œuf trispermique âgé de 4 heures (1re division).

FIG. 62. — Le même vu par en dessous.

FIG. 63. — Œuf trispermique âgé de 3 h. $^1/_2$ (récolte de 1910), vu par en dessous.

FIG. 64. — Œuf dispermique âgé de 4 h. $^1/_2$ (3e division).

FIG. 65. — Idem, âgé de 6 h.

(1) Toutes ces figures *in toto* sont faites d'après nature.

Fig. 66. — Œuf trispermique âgé de 6 h.

Fig. 67. — Idem, 18 h.

Fig. 68. — Œuf dispermique âgé de 20 h. $^1/_2$.

Fig. 69. — Idem âgé de 24 h.

Fig. 70. — Œuf trispermique âgé de 24 h.

Fig. 71. — Gastrula dispermique vue par son pôle supérieur.

Fig. 72. — Gastrula trispermique de 53 h.

Fig. 73. — Embryon trispermique de 72 h., avec partie nécrosée.

Fig. 74. — Embryon trispermique de 72 h.

Fig. 75. — Reconstitution en coupe sagittale d'une blastula trispermique avec clivage gastrulien.

Fig. 76. — Microphotographie représentant une coupe transversale passant par la région des ébauches génitales chez un têtard trispermique de 54 jours.

Fig. 77. — Coupe transversale du système nerveux central d'un embryon trispermique de 30 jours dans la région postérieure du tronc.

Planche XII.

Fig. 86. — Microphotographie d'une coupe transversale de la tête d'un têtard trispermique de 54 jours.

Fig. 87. — Idem d'un têtard trispermique de 30 jours.

Fig. 88. — Mitose en chaîne et mitose déviée, dess. à la chambre claire, obj. Leitz. imm. homog. $^1/_{12}$.

Fig. 89. — Fragment du plancher de la cavité de segmentation d'une blastula trispermique de 19 heures, à la limite de la partie insegmentée, dont on voit les degrés extrêmes de la dégénérescence du protoplasme et des polycaryons, même grossiss.

Fig. 90. — Microphotographie représentant l'œil droit de l'embryon de 30 jours représenté à un gross. plus faible, fig. 87.

Fig. 91. — Microphotographie d'une coupe transversale d'un embryon trispermique de 30 jours, dans la région des ébauches génitales.

Fig. 92. — Embryon trispermique de 30 jours : pronephros droit.

Fig. 93. — Idem, pronephros gauche.

Fig. 94. — Mitose polycentrique et mitose achromatique. Même gross. que la fig. 88.

FIG. 95. — Coupe transversale de la région antérieure du tronc chez l'embryon trispermique représenté en entier, fig. 73, pl. IV.

FIG. 96. — Partie médiane du muscle pharyngien d'un têtard trispermique de 54 jours.

FIG. 97. — Ébauches génitales d'un embryon trispermique de 15 jours.

FIG. 98. — Groupe de cellules cartilagineuses chez un embryon trispermique de 10 jours. Côté gauche.

FIG. 99. — Idem, côté droit. Ces 2 fig. sont dess. à la chambre claire, obj. Leitz n° 7.

FIG. 100. — Groupe de noyaux du système nerveux central de l'embryon trispermique de 54 jours. Côté droit.

FIG. 101. — Idem côté gauche.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages

Introduction 103
Matériel et Technique 123
Résultats généraux 127

Première Partie. — *Mécanisme de la fécondation des œufs di- et trispermiques.* 130

CHAPITRE I. — Maturation des œufs et pénétration des spermatozoïdes 130
CHAPITRE II. — Copulation des pronuclei mâle et femelle . 150
Considérations générales sur la fécondation des œufs di-et trispermiques 154

Deuxième Partie. — *Segmentation des œufs di- et trispermiques de* Rana fusca. 173

CHAPITRE III. Première division 174
CHAPITRE IV. — Allure générale de la segmentation . . 188
CHAPITRE V. — Phénomènes de réglage. Arrêts régionaux de la segmentation 201
CHAPITRE VI. — La symétrie bilatérale des œufs di- et trispermiques 237

Troisième Partie. — *Étude des embryons* . . 262

CHAPITRE VII. — Formation des feuillets germinatifs . . 262
CHAPITRE VIII. — Etude des embryons de 3 à 93 jours . . 275
Considérations générales 296
Bibliographie 308
Explication des Planches 329

Etudes sur les localisations germinales et leur potentialité réelle dans l'œuf parthénogénétique de *Rana fusca* [1].

PAR

A. BRACHET.

PLANCHE XIII.

Une brève explication des termes employés dans le titre de ce travail est indispensable, et, en même temps, servira d'introduction.

Je n'ai plus à définir les localisations germinales : tout lecteur au courant des travaux modernes d'embryologie expérimentale, sait ce que signifie cette expression prise dans un sens général. Seulement, son application au cas spécial de *Rana fusca* doit être précisée en quelques mots.

L'œuf mûr ne montre aucune trace de localisations germinales, ni à l'examen extérieur, ni sur des coupes microscopiques ; mais elles prennent des caractères nets et précis, dès que la fécondation est effectuée et avant que la segmentation ne commence. A ce moment en effet, l'œuf change d'aspect ; un remaniement du pigment cortical fait apparaître dans la région équatoriale, et dans une moitié de l'œuf seulement, une bande grise en forme de croissant, établissant une transition entre le pigment brun, compact, de l'hémisphère supérieur et le vitellus blanc qui compose toute la partie voisine du pôle inférieur.

[1] Une communication préliminaire relatant les principaux résultats de ce travail a été publiée dans le *Bull. Soc. roy. sc. méd. et nat. de Bruxelles. Séance du 3 avril* 1911.

Dans la moitié opposée, le croissant gris (graue Feld, grey crescent) n'existe pas ; le pigment brun descend beaucoup plus bas et la transition avec le vitellus blanc est plus brusque. Grâce à ces détails, facilement visibles à la loupe, l'œuf fécondé de *Rana fusca* peut être divisé en deux moitiés parfaitement symétriques, par un plan vertical passant par les pôles et par la partie la plus large du croissant gris.

Or, si l'on étudie des coupes d'un œuf de ce genre, on constate que la traînée de pénétration du spermatozoïde se trouve dans la moitié de l'œuf opposée au croissant gris et coïncide exactement avec le méridien de symétrie bilatérale.

L'absence de localisations germinales dans l'œuf mûr, leur apparition par la fécondation, la relation constante qu'affecte avec elles la traînée spermatique, d'autres faits encore sur lesquels il est inutile d'insister ici, ont permis de conclure que la stabilisation des localisations germinales est un des actes de la fécondation, et que le point d'entrée du spermatozoïde dans l'œuf, qui peut être quelconque, détermine la situation du plan de symétrie bilatérale. Ce sont ces conséquences de la pénétration d'un spermatozoïde dans l'œuf, que j'ai proposé d'appeler les *manifestations dynamiques de la fécondation.*

Ce n'est pas tout ; il est actuellement démontré : 1° que la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé se maintient pendant tout le cours de la segmentation et se continue dans celle de la gastrula et de l'embryon ; 2° que la lèvre craniale du blastopore apparaît dans la partie la plus large du croissant gris et que, par conséquent, cette région de l'œuf donne naissance à l'extrémité céphalique de l'embryon ; 3° que dès le début, la segmentation de l'œuf marche un peu plus vite dans la moitié de l'œuf où se trouve le croissant gris que dans l'autre ; c'est là notamment que le premier sillon latitudinal (3e sillon de segmentation) apparaît d'abord, pour s'achever, d'ailleurs, en l'espace de deux ou trois minutes.

Tels sont les faits que l'étude descriptive et expérimentale de la fécondation normale a mis en lumière.

D'autre part, l'examen des œufs de grenouille rendus artifi-

ciellement polyspermiques, a permis d'établir les faits suivants : 1° Que l'œuf ait été pénétré par deux, trois ou même quinze en vingt spermatozoïdes, il n'en réagit pas moins comme dans la monospermie ; c'est à dire que les manifestations dynamiques de la fécondation (apparition du croissant gris et de la symétrie bilatérale) se montrent en même temps, avec la même netteté et ont la même influence sur la marche ultérieure du développement. La grande mortalité des œufs di- ou polyspermiques est due à des causes qui ont pu être déterminées et qui sont indépendantes des propriétés fondamentales, formatives, de l'œuf.

2° Dans l'œuf dispermique, le méridien de symétrie bilatérale passe à mi-distance entre les points d'entrée des deux spermatozoïdes, et sa situation doit être considérée comme une résultante de leurs actions respectives. Mais dans les œufs trispermiques et *a fortiori* polyspermiques, il n'existe plus de relation entre ce méridien et aucune des traînées spermatiques ; sa détermination doit donc être due à des causes différentes, et pour des raisons que je ne puis répéter ici, l'étude de la polyspermie expérimentale permet de formuler la conclusion générale suivante : l'œuf pondu de Rana fusca a une symétrie bilatérale primaire et des localisations germinales préformées, mais dans un état instable, incomplet, susceptible de modifications ; la polyfécondation ne fait que les fixer et les stabiliser, tandis qu'elles subissent un déplacement et un remaniement dans l'œuf monospermique et dispermique. Dès lors, les agents de parthénogénèse expérimentale, s'ils sont capables de produire les manifestations dynamiques de la fécondation, doivent le faire par une action analogue à celle de la pénétration simultanée de plusieurs spermatozoïdes.

Les faits que je viens de rappeler, précisent ce que l'on doit entendre par l'expression de "localisations germinales" quand elle s'applique à l'œuf de *Rana fusca*. On en trouvera l'exposé complet et détaillé, avec toutes les indications bibliographiques nécessaires dans mon dernier travail sur la polyspermie [1], et

[1] A. Brachet. Recherches sur l'influence de la polyspermie expérimentale dans le développement de l'œuf de *Rana fusca*. *Arch. de Zool. exp. et générale*. 5e série, t. VI, n° 1, 1910.

dans celui que HERLANT a consacré à l'étude des œufs di- et trispermiques (1).

Le second terme introduit dans le titre de ce travail, et qui demande un mot d'explication, est celui de "potentialité réelle„. J'exprime par là, en français, ce que H. DRIESCH et les Allemands appellent "prospektive Bedeutung„, et je réserve le nom de "potentialité totale„ à la "prospektive Potenz„ de DRIESCH.

La potentialité réelle, c'est donc ce que l'œuf en général, et ses localisations germinales en particulier, forment dans l'ontogénèse normale, lorsqu'aucun facteur, accidentel ou expérimental ne vient altérer le cours du développement ; la potentialité totale, c'est tout ce que l'œuf ou ses localisations germinales sont capables de faire, à la fois dans le développement typique et dans le développement atypique, c'est-à-dire modifié par des circonstances fortuites ou voulues par l'expérimentateur (2). Et il ne faut pas perdre de vue, ainsi que ROUX l'a justement fait remarquer, que "typique„ et "normal„ ne sont pas synonymes ; en effet, le développement d'un œuf parthénogénétique ou polyspermique, par exemple, n'est sûrement pas typique, et cependant la segmentation, la gastrulation et la formation de l'embryon peuvent parfaitement être normales (3).

* * *

J'ai tenu à résumer ce que l'on sait actuellement sur les localisations germinales et leur potentialité réelle dans l'œuf

(1) M. HERLANT. Recherches sur les œufs di- et trispermiques de grenouille. *Arch. de Biologie*, t. XXVI, fasc. 1 et 2. 1911.

(2) Le développement *typique* et le développement *atypique* sont entendus ici avec l'acception que leur a donnée ROUX : Ueber die Ursachen der Bestimmung der Hauptrichtungen des Embryo im Froschei. *Anat. Anz.*, XXIII, 1903.

(3) J'ai employé pour la première fois les expressions de potentialité réelle et de potentialité totale en 1907 (Les idées actuelles sur la potentalité des blastomères. *Bull. de la Soc. roy. Zool. et Malac. de Belgique*, t. XLIII, 1907). Elles ont été adoptées par PRENANT dans son article sur l'hérédité. (*Journ. de l'anat. et de la physiol.*, t. XLVII. 1911).

de *R. fusca*, afin de faire facilement saisir par le lecteur la nature des questions que je veux étudier dans ce travail. Pour moi, en effet, la parthénogénèse expérimentale n'était pas, comme pour J. Loeb, Yves Delage, Bataillon, le but immédiat de mes recherches. Je n'ai pas, comme eux, essayé d'analyser les conditions dans lesquelles elle se produit, ni tenté de connaître la nature réelle, chimique ou physique, des mécanismes qu'on doit mettre en marche pour la provoquer.

J'ai simplement recouru à la parthénogénèse expérimentale pour mettre en lumière certaines des propriétés de l'œuf mûr, que la fécondation normale masque plus ou moins complètement ; spécialement préoccupé par le côté morphologique du problème, j'ai voulu savoir si la parthénogénèse réalise réellement une *promorphologie* dans l'œuf, et, dans l'affirmative, si elle a la même importance et la même signification que celle qui apparaît après une fécondation normale. D'autre part, mes recherches sur la polyspermie expérimentale dans l'œuf de grenouille, m'avaient amené à dire qu'à certains points de vue, l'évolution d'un œuf polyfécondé est assimilable à un développement parthénogénétique ([1]). Or, la merveilleuse méthode que Bataillon nous a fait connaître, me mettait à même de vérifier cette idée et peut-être de faire quelques constatations nouvelles et intéressantes.

Que nous disent, en effet, Loeb, Delage, Bataillon, des effets produits sur l'œuf par les agents de parthénogénèse expérimentale ? Ils constatent que l'œuf se rétracte, expulse un fluide, soulève sa membrane vitelline, achève sa maturation chromatique et éventuellement cytoplasmique ; puis dans un second temps, son pronucléus quitte la surface et des divisions cellulaires commencent, qui peuvent aboutir à des larves normales. Je sais bien que chez les Echinodermes, qui ont fait l'objet des superbes travaux de Loeb et de Delage, il serait très difficile d'en dire davantage. Mais Bataillon qui a opéré

([1]) A. Brachet, *loc. cit.* Voir notamment pages 53 et 55.

sur l'œuf de grenouille, n'est pas plus explicite [1], et en ce qui concerne la contraction de l'œuf et l'expulsion de fluide, je trouve simplement, dans un de ses premiers travaux sur la question [2], un détail complémentaire, à savoir que cette contraction, dans la parthénogénèse comme dans la fécondation normale, part du pôle supérieur de l'œuf, et s'étend comme une onde jusqu'au pôle inférieur. Ce détail s'explique d'ailleurs très aisément par la répartition différente du deutoplasme et du protoplame aux deux pôles de l'œuf du Petromyzon sur lequel cette constatation a été faite.

Mais, chez la grenouille, nous savons que la fécondation (mono- ou polyspermique) a une autre conséquence qui, au point de vue de la marche régulière du développement, est bien plus importante que la contraction, l'expulsion de fluide, et le soulèvement de la membrane vitelline : c'est la stabilisation des localisalions germinales et la formation du croissant gris qui les rend visibles extérieurement et donne à l'œuf une symétrie bilatérale. Or, il faut bien noter que ces manifestations dynamiques de la fécondation ne sont nullement la conséquence forcée de la réaction immédiate de l'œuf vis-à-vis de l'agent fécondant, dans ce que Loeb appelle le premier temps. Chronologiquement, elles ne coïncident nullement. L'œuf de Rana a

[1] Je ne donne pas ici les références bibliographiques des travaux de Loeb et de Delage, qui sont connus de tout le monde et ont été maintes fois cités. Je renseignerai, parmi les travaux de Bataillon, ceux qui ont les rapports les plus directs avec l'objet de mes recherches. Ce sont : *a*) Nouveaux essais de parthénogenèse expérimentale chez les Vertébrés inférieurs. *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XVIII, 1904.

b) L'imprégnation hétérogène sans amphimixie. *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XXVIII, 1909.

c) L'embryogénèse complète, provoquée chez les Amphibiens par piqûre de l'œuf vierge. C.-R. Paris, t. 150, n° 16, 1910.

d) Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. *Arch. de Zool. exp. et gén.*, sér. V, t. VI. n° 2, 1910

e) Les deux facteurs de la parthénogénèse traumatique chez les Amphibiens. C.-R. Paris, t. 152, n° 13, 27 mars 1911.

f) L'embryogénèse provoquée chez l'œuf vierge d'Amphibiens par inoculation du sang ou de sperme de mammifère. C.-R. Paris, t. 152, n° 19, 8 mai 1911.

[2] Bataillon, *loc. cit. a*.

achevé de se contracter, a formé son liquide périvitellin, peut se déplacer dans sa membrane vitelline, : 5 à 30 minutes après l'imprégnation par le sperme ou après la piqûre dans le procédé de parthénogénèse imaginé par Bataillon ; mais il faut au moins deux heures pour que le croissant gris devienne visible dans l'œuf normalement fécondé. Roux a déja attiré l'attention sur cette différence (1), et j'ai démontré en 1906 (2) que ce n'est qu'une heure environ après l'imprégnation par le sperme que l'œuf commence à perdre le pouvoir régulateur complet qu'il avait jusqu'alors.

On conçoit dès lors, qu'il était du plus haut intérêt de rechercher si ces manifestations dynamiques de la fécondation apparaissent dans la parthénogénèse par piqûre, puis comment et à quel moment elles le font. Et puisque dans le développement normal et polyspermique leur potentialité réelle est bien établie, il devenait utile de savoir si elle reste la même dans la parthénogénèse ou si elle s'y modifie.

On dira peut-être que ces questions ne se posent avec une pareille précision que pour l'œuf de grenouille, et que la réponse que l'on y donnera ne pourra pas être généralisée. C'est une erreur, car tous les œufs présentent des localisations germinales, tous les œufs sont plus ou moins des "Mosaïkeiern„. Ces localisations peuvent n'être pas très fixes ni très stables, ou ne le devenir que relativement tard, mais elles n'en existent pas moins. La vérité est que l'œuf de *Rana fusca*, au point de vue que nous envisageons ici, est non seulement le mieux étudié et le plus complètement connu, mais encore un de ceux qui se montrent le plus favorables à l'analyse expérimentale des manifestations dynamiques de la fécondation, de la potentalité des blastomères, etc.. L'apparition du croissant gris est, chez *Rana*, un des actes de la fécondation, une de ses conséquences immédiates, mais partout où on a pu l'étudier, la pénétration d'un

(1) Roux. *loc. cit.*

(2) A. Brachet. Recherches expérimentales sur l'œuf non segmenté de *Rana fusca*. *Arch. f. Entwick.-Mech.*, Bd. XXII, 1906.

spermatozoïde dans l'œuf mûr y produit des transformations profondes.

On dira peut-être encore qu'en fait, les questions que je me suis posées sont tranchées, puisque Bataillon, Dehorne [1], Henneguy [2] ont obtenu, par piqûres d'œufs vierges, des larves bien conformées. C'est là encore une erreur, et cette objection porte à faux, comme celle que l'on tirerait des résultats acquis par J. Loeb et Y. Delage chez les Echinodermes. En effet, le succès d'un développement parthénogénétique expérimental ne prouve pas par lui-même que le déterminisme des localisations germinales soit le même qu'après une fécondation normale et ait les mêmes conséquences. Au contraire, le pourcentage relativement faible des succès complets, c'est-à-dire des larves bien conformées, comparé au nombre considérable des œufs qui se segmentent plus ou moins bien, fait naître l'idée que, dans la parthénogénèse, ces localisations sont souvent incomplètes ou anormales, et que leur régularisation est du ressort de ce que Loeb appelle le second temps de l'impulsion au développement.

Nous verrons plus loin qu'il n'en est rien, et nous verrons aussi que le résultat final d'un développement parthénogénétique, n'est pas sous la dépendance de l'état des localisations germinales. C'est là, je crois, un résultat important de ce travail.

*
* *

Ayant, dans les pages qui précèdent, bien délimité mon sujet, il serait sans intérêt d'allonger davantage cette introduction, et je passe immédiatement à l'exposé des résultats de mes expériences.

---

(1) Dehorne. Le nombre de chromosomes chez les Batraciens et chez les larves parthénogénétiques de grenouille. C. R. Paris T. 150, n° 22. 1910.

(2) Henneguy. Sur la parthénogénèse expérimentale chez les Amphibiens. C. R. Paris. T. 152, n° 14. 3 avril 1911.

TECHNIQUE

C'est celle que BATAILLON [1] a fait connaître en 1910, c'est-à-dire la piqûre pure et simple des œufs au moyen de fins stylets. Au moment où j'ai opéré, je ne connaissais pas encore l'influence de l'introduction dans l'œuf de sang ou de lymphe, que BATAILLON a découverte et dont il poursuit encore l'analyse [2].

Voici, rapidement exposé, comment j'ai opéré. Après décapitation, la peau du ventre de la femelle est cautérisée avec une large spatule chauffée au rouge, puis les téguments sont ouverts au moyen de ciseaux et de pinces flambés. Ces précautions ont pour but de détruire les spermatozoïdes qui pourraient se trouver par hasard sur le corps de l'animal. La masse des œufs mise à nu, je prenais ceux-ci sur l'extrémité d'une étroite spatule, et je les déposais, le *pôle blanc en bas*, sur une lame de verre, chacune de ces lames recevant une série de 60 œufs. Alors, en me servant de la loupe binoculaire, je piquais les œufs aussi rapidement que possible, en dirigeant toujours mon aiguille dans la même direction et en l'introduisant aussi exactement que possible entre l'équateur et le pôle supérieur.

Quand on a pris la précaution de ranger les œufs en séries linéaires sur la lame de verre, il ne faut pas deux minutes pour en piquer 60.

Aussitôt les piqûres faites, la lame de verre était plongée dans un grand cristallisoir d'eau pure.

Dans chaque cas, un paquet d'œufs fécondés artificiellement, par les méthodes habituelles, servait de témoin et plusieurs fois un lot d'œufs vierges a été jeté dans l'eau dans un but de

---

(1) BATAILLON. *loc. cit. c.*

(2) Voir sur ce sujet : BATAILLON. loc. cit. *c, f.*

Voir aussi ma note préliminaire du 3 avril 1911 à *la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles*. Voir enfin la note de HENNEGUY *loc. cit.*

contrôle. Jamais ils n'ont montré aucun indice de parthénogénèse et il n'en sera plus question.

En ce qui concerne les stylets, j'en avais de grossiers et de très fins ; on verra plus loin pourquoi. Les premiers étaient, ou bien un fil de platine de 100 μ d'épaisseur, taillé en biseau et fixé dans une baguette de verre, ou bien une fine aiguille ordinaire, semblable à celles dont on se sert dans les expériences classiques de la piqûre des blastomères. Les stylets fins étaient en verre ou en platine taillés en biseau, ou encore en quartz étiré. Ces derniers sont très recommandables à cause de leur solidité et de leur résistance à la chaleur, qui permet de les stériliser. Mes stylets fins avaient en moyenne de 20 à 40 μ d'épaisseur ; ce sont ces mêmes épaisseurs que Bataillon à employées.

Je classerai les résultats de mes expériences en deux groupes, selon que les œufs ont été piqués avec des instruments grossiers (groupe A) ou délicats (groupe B).

Groupe A. — A ce groupe se rapportent trois séries d'expériences que j'ai faites pour deux raisons. Je tenais d'abord à voir si un œuf est susceptible de réagir à une action aussi brutale. Je puis déclarer simplement, et sans entrer dans des détails inutiles, que les résultats sont semblables mais moins bons que dans la série B. Les extraovats sont toujours volumineux, beaucoup d'œufs sont immédiatement tués par la piqûre, mais ceux qui ne le sont pas présentent tous un croissant gris parfait au bout d'une couple d'heures, et quelques-uns, rares il est vrai, entrent en segmentation. Celle-ci est généralement irrégulière. Mais j'ai obtenu trois belles divisions en deux blastomères ; deux de ces œufs ont gastrulé, mais n'étaient, le lendemain, que de larges spina bifida qui sont morts quelques heures après.

En somme, et abstraction faite des œufs tués d'emblée, les résultats sont identiques à ceux de la série B que je décrirai plus longuement, mais ils sont moins frappants à cause de la brutalité des lésions produites.

J'avais un autre motif encore pour faire dans les œufs vierges des piqûres brutales. Dans mes expériences de 1906

([1]), où je cherchais par la méthode des piqûres avec l'aiguille chauffée à déterminer le moment où se fixaient les localisations germinales, je disais, pages 328—329 : " Les œufs retirés du „ corps de la mère avec de grandes précautions, sur la pointe „ d'un scalpel, déposés le pôle blanc en bas sur une lame de „ verre et légèrement piqués *avant l'imprégnation par le* „ *sperme* ([2]), ne m'ont fourni aucun embryon. J'en ai cepen- „ dant opéré plus de 200. Tous sont morts, la plupart sans „ présenter trace de segmentation. Roux, qui a fait la même „ expérience, est arrivé à des résultats semblables. Un certain „ nombre sont morts après avoir montré 2, 3 ou 4 sillons super- „ ficiels, irréguliers et atypiques. Quelques-uns ont subi les 3 „ premières segmentations d'une façon assez normale, mais „ n'ont pas été plus loin. Un seul m'a donné une belle morula, „ malgré l'existence d'un extraovat assez volumineux, mais le „ développement s'est arrêté là, et l'œuf s'est rapidement „ nécrosé.

„ J'ai modifié de toutes façons l'intensité et l'orientation de „ la piqûre ; j'ai piqué très légèrement, sans même chauffer „ l'aiguille et toujours avec les mêmes résultats.

„ *Cependant ces œufs sont susceptibles d'être fécondés, puis-* „ *qu'un certain nombre d'entre eux a commencé à se segmenter,* „ *parfois selon un rythme tout à fait normal,* mais ils sont „ incapables de donner une gastrula ou un embryon. „

Et j'expliquais cela par une solidité moins grande du protoplasme ovulaire.

Bataillon, dans une lettre personnelle, avait attiré mon attention sur cette partie de mon travail et comme il avait constaté que les œufs actionnés par piqûre ne se laissent plus pénétrer par un spermatozoïde, il se demandait si les quelques succès que j'avais obtenus n'étaient pas dûs à un début de parthénogénèse.

C'était trop plausible pour que je ne refaisse pas mon expé-

([1]) A. Brachet, *loc. cit.*

([2]) Non souligné dans l'original.

rience de 1906, *mais sans ajouter de sperme après la piqûre.* J'en ai donné plus haut les résultats ; et il en découle que la supposition de Bataillon est exacte.

Je n'ai toutefois pas lieu de me glorifier d'avoir été le premier à faire de la parthénogénèse par piqûre, car je l'ai fait sans m'en douter, et sans comprendre ce qui se passait. Je n'en parle que pour donner l'explication d'un point qui, dans mes recherches de 1906, était resté obscur (1).

Série B. — Je ne puis mieux faire, pour bien mettre en relief la portée de cette série, que de transcrire ici le protocole d'une de mes expériences, qui servira de type.

Expérience du 11 mars 1911. — Entre 10 $^1/_2$ et 11 heures du matin, 180 œufs, déposés le pôle blanc en bas sur 3 lames de verre, sont piqués : 120 avec une très fine aiguille de verre de 30 μ d'épaisseur environ, et 60, avec un stylet de platine de 40 μ, taillé en biseau. Un autre paquet d'œufs est fécondé normalement, pour servir de témoin.

A midi, l'examen à la loupe montre que tous les œufs ont expulsé un peu de liquide périvitellin. Ils se sont donc rétractés et sont mobiles dans leurs enveloppes. Dans cette expérience, la vérification de cette mobilité n'a pas été faite, afin d'éviter le déplacement du mince filament d'extraovat qui doit servir de point de repère. Elle était inutile d'ailleurs : Bataillon nous a renseignés sur ce point, que j'ai également noté dans d'autres expériences.

A 2 heures de l'après-midi, tous les œufs piqués, sans exception, ont un magnifique croissant gris, très large et très haut, leur donnant une symétrie bilatérale dont le plan peut être déterminé au premier coup d'œil. Les témoins normalement fécondés ont des caractères identiques, et *sans la présence d'un mince extraovat filamenteux dans les œufs piqués, rien ne permettrait de distinguer les œufs “ fécondés „ par piqûre, de ceux qui l'ont été par du sperme. Dans les deux cas, les manifestations dynamiques de la fécondation, préalables*

(1) Il est clair qu'il s'agit là d'un détail tout à fait accessoire pour le but que je poursuivais dans mes expériences de 1906, dont les résultats restent intacts.

à la segmentation, et consécutives à la formation du liquide périvitellin, ont apparu en même temps et ont le même aspect.

Une vérification rapide permet de constater qu'il n'y a, dans les œufs piqués, aucune espèce de relation entre la position du croissant gris et le point d'entrée du stylet. Dans des proportions sensiblement identiques, on trouve le croissant dans la moitié de l'œuf diamétralement opposée à la fossette d'où sort l'extraovat (Pl. XIII, fig. 1) ; ou bien exactement en dessous d'elle (fig. 2), ou encore à sa droite (fig. 3) ou enfin à sa gauche (fig. 4). Entre les quatre positions-types que j'ai figurées, on trouve tous les intermédiaires.

Entre 2 1/2 h. et 2 3/4 h. de l'après-midi, *en même temps* que la segmentation régulière en deux blastomères commence dans tous les témoins, je trouve des divisions dans les œufs piqués. En l'espace d'un quart d'heure, 35 d'entre eux, sur 180, entrent en segmentation; parmi ces 35 œufs, 27 sont bien régulièrement divisés en 2, 3 le sont en 3 blastomères dont les sillons de séparation convergent au pôle supérieur, et ont l'aspect des plus beaux œufs trispermiques décrits par Herlant (1) ; 1 s'est divisé d'emblée en 4 blastomères aussi réguliers qu'après la 2me segmentation normale ; enfin les 4 derniers montrent une mosaïque de 5 à 8 blastomères et rappellent complètement les œufs à polyspermie moyenne typique que j'ai décrits en 1910 (2). Naturellement la segmentation n'existe encore, à ce moment, que dans l'hémisphère supérieur.

Les 27 œufs régulièrement segmentés en 2 sont mis à part et soigneusement examinés. On peut y constater : 1° qu'il n'y a aucune relation de préférence entre l'orientation du premier sillon de segmentation et le plan de symétrie bilatérale de l'œuf : dans quelques cas ils coïncident, dans les autres ils se croisent suivant les angles les plus variables, allant jusqu'au droit.

De semblables variations existent aussi dans la segmentation normale, toutefois dans 60 à 70 % des cas, la coïncidence du

(1) M. Herlant. *loc. cit.*

(2) A. Brachet. *loc. cit.* 1910.

premier plan de segmentation et du plan de symétrie est approximative. Il n'en est rien dans les œufs mis en activité par piqûre.

2° Dans quelques cas rares, on voit le sillon de segmentation partir du point d'entrée du stylet. Cette coïncidence, dans cette expérience comme dans toutes les autres, est trop exceptionnelle pour qu'elle ne soit pas due à des causes purement fortuites.

3° Sur 12 d'entre eux, la partie la plus large du croissant gris est diamétralement opposée (ou à peu près) à la fossette d'où sort l'extraovat (Pl. XIII, fig. I). Trois montrent la disposition exactement inverse (fig. 2) et sur l'un de ces trois œufs, le point d'entrée du stylet est situé en plein croissant gris. Cette constatation a son intérêt, car elle prouve que la piqûre faite au moyen d'un très fin fil de platine ou de verre n'a aucune influence sur la marche des réactions qui se passent dans l'œuf. Henneguy [1] a également constaté l'inocuité complète de la piqûre sur les blastomères d'un œuf en segmentation. Cinq œufs ont la partie la plus large du croissant gris assez exactement à droite du point de piqûre (fig. 3), et enfin sept l'ont très approximativement à gauche. (fig. 4).

Les œufs de ces quatre catégories sont isolés et placés dans quatre cristallisoirs que nous désignerons respectivement par les lettres A, B, C, D. A ce moment, j'ai prélevé un œuf de chaque lot, et l'ai fixé au formol chaud, en vue d'un examen ultérieur.

A 4 heures de l'après-midi, la segmentation en huit commence, en même temps dans les témoins et dans les quatre cristallisoirs. Contrairement à ce que Henneguy a constaté, pour des stades plus avancés il est vrai, je n'ai observé aucune différence chronologique entre les opérés et les témoins pendant la segmentation et même la gastrulation.

Après la fécondation par piqûre, la division en huit est souvent un peu irrégulière et parfois elle l'est même très fort,

[1] Henneguy. *loc. cit.*

malgré des points de départ identiques. Souvent le sillon latitudinal est irrégulier : parfois il est remplacé par un troisième plan de division vertical. Dans les cas les plus typiques, le sillon latitudinal apparaît d'abord dans la partie de l'œuf qui contient le croissant gris, pour n'achever son trajet que quelques minutes plus tard. Ce mode de formation et d'extension du troisième plan de segmentation est assez constant dans les œufs normaux, et il est intéressant de constater qu'on le rencontre parfois aussi dans la parthénogénèse expérimentale.

Je fixe à ce moment, au formol chaud, un ou deux spécimens bien typiques de chacun des cristallisoirs A, B, et D. ; C. n'en montre aucun qui soit suffisamment clair : tous les œufs de ce lot atteignent le stade à huit cellules par un processus plus ou moins irrégulier.

J'avais surveillé jusqu'alors les 145 œufs piqués qui ne s'étaient pas segmentés en même temps que les autres. Ils avaient tous conservé leur magnifique croissant gris, mais n'avaient présenté aucun changement entre 2 1/2 h. et 4 heures.

Or, à 4 h. 15, en les examinant de nouveau, j'en trouve quelques-uns qui montrent, dans l'hémisphère supérieur, une mosaïque très irrégulière de blastomères, comme dans la polyspermie moyenne et forte. Sur certains d'entre eux, les sillons sont nets et profonds, sur d'autres ils ne sont que de simples rainures, sur tous ils sont disposés sans ordre et les cellules qu'ils délimitent sont de taille très variable [1].

Cette segmentation retardée a été également observée par Bataillon, qui a très bien reconnu qu'elle est toujours abortive. Dans toutes mes expériences elle a été rare.

Dans la soirée et la nuit, les œufs des cristallisoirs A, B, C et D, ont continué à se diviser, les uns suivant un rythme se rapprochant fort de la normale, d'autres irrégulièrement, d'autres encore avec un fort retard suivi bientôt d'arrêt complet. En revanche, les 135 œufs non segmentés ou à segmentation

[1] On se fera une excellente idée de l'aspect réel de ces œufs en se reportant aux figures 3, 4, 5 et 6. Pl. I de mon travail sur la polyspermie. *Loc. cit.* 1910.

retardée n'ont pas progressé, et des signes de nécrose ont même apparu, aussi sont-ils tous morts le 12 mars au matin.

Ce même jour, entre 11 heures du matin et midi et demie, la gastrulation commence dans les témoins et dans les lots A, B, C et D. L'examen de ces lots, fait à ce moment, donne les résultats suivants :

Cristallisoir A. — Le 11 mars à 4 heures de l'après-midi, il y restait 9 œufs bien vivants ; le 12 mars, vers midi, 4 d'entre eux sont complètement nécrosés, mais les 5 autres ont une belle encoche marquant le début du soulèvement de la lèvre craniale du blastopore. Sur 3 de ces jeunes gastrulas, l'encoche blastoporale est en position typique, c'est-à-dire est diamétralement opposée au point d'entrée du stylet, d'où l'on voit encore sortir l'extraovat (Pl. XIII, fig. 1*a*). Une quatrième est aussi démonstrative, mais l'encoche est un peu latérale. La dernière enfin n'a pu être utilisée parce que l'extraovat s'était décollé et toute trace de piqûre avait disparu.

Cristallisoir B. — Il ne reste qu'un œuf vivant. C'est aussi une jeune gastrula, dont l'encoche blastoporale est située juste en dessous de la fossette d'où sort l'extraovat (fig. 2*a*).

Cristallisoir C. — Tous les œufs sont morts, sauf un qui a une belle encoche blastoporale exactement à droite de la piqûre (fig. 3*a*).

Cristallisoir D. — 4 œufs sont encore vivants, et gastrulent. Dans tous les quatre, l'encoche blastoporale, fort nette, est à gauche du point d'entrée du stylet (fig. 4*a*).

La conclusion est claire : *dans tous les œufs rendus parthénogénétiques par piqûre, la lèvre craniale du blastopore, qui apparaît la première, se forme dans la partie la plus large du croissant gris, un peu en dessous de l'équateur.* Or, il en est exactement de même dans le développement normal et dans le développement polyspermique.

J'ai fixé au formol chaud, l'œuf du lot B, et les mieux réussis du lot D ; mes expériences antérieures m'avaient suffisamment pourvu des catégories A et C.

Le 13 mars, à midi, tous les œufs restants sont de larges spina bifida, sauf un, provenant du lot A, dont le blastopore est

réduit à un petit orifice punctiforme et est identique aux témoins. Les spina bifida se nécrosent dans la soirée. Le jeune embryon restant a continué à se développer normalement, et a vécu pendant 18 jours. Peut-être, comme HENNEGUY l'a constaté, était-il un peu plus petit que les témoins, mais je ne pourrais l'affirmer.

Quoiqu'il en soit, le 18e jour, il paraissait malade et je l'ai fixé au liquide de BOUIN en vue d'un examen histologique.

*
* *

Il me reste à commenter les résultats que je viens de relater et à les compléter par quelques observations, faites au cours des expériences précédant et suivant celle que j'ai prise comme type.

Un premier fait ressort à toute évidence : tous les œufs piqués, sans exception, réagissent de la même façon. En même temps que les témoins, c'est-à-dire dans les 30 à 40 minutes qui suivent la piqûre, ils se contractent, expulsent du liquide périvitellin, la membrane vitelline s'écarte ainsi de leur surface et ils peuvent tourner dans leurs enveloppes. Ce sont là des constatations que BATAILLON avait déjà faites et que je confirme. *Mais j'ajouterai que, 2 heures à 2 heures $^1/_2$ après que ces modifications se sont produites, c'est-à-dire, encore une fois, dans les mêmes délais que pour les témoins fécondés par le sperme, les localisations germinales s'établissent et le croissant gris apparaît avec la symétrie bilatérale qui en est la conséquence.* En d'autres termes, les manifestations dynamiques de la fécondation normale se produisent dans la parthénogénèse avec les mêmes caractères extérieurs et dans le même laps de temps.

Dans l'ensemble de mes expériences, j'ai piqué 2149 œufs ; je les ai examinés tous, et aucun n'a fait exception à la loi que je viens d'établir.

Comme le croissant gris parthénogénétique a une importance capitale dans l'ordre d'idées que je suis ici, je veux démontrer qu'il a la même valeur que celui qui apparaît dans la fécondation mono-di-ou polyspermique. 1° Il apparaît endéans le même laps de temps et est précédé de l'expulsion de liquide périvitel-

lin. 2° Il a le même aspect et la même étendue que dans les œufs fécondés par du sperme, pourvu qu'ils proviennent de la même femelle. 3° Il n'est en rien comparable à la zone de transition qui peut apparaître, sous l'influence de la pesanteur dans les œufs immobilisés en position oblique, car : *a*) il est beaucoup trop précoce pour cela, et *b*) tous les œufs que j'ai opérés avaient été soigneusement orientés le pôle blanc en bas avant la piqûre, et adhéraient à la lame de verre par leur gangue gélatineuse. 4° Enfin, *et ceci est absolument décisif*, il a la même potentialité réelle que dans le développement typique : l'encoche qui deviendra la lèvre craniale du blastopore apparaît toujours dans la partie de l'œuf où il est le plus large (Comparer, Pl. XIII, les fig, 1 et 1*a*, 2 et 2*a*, 3 et 3*a*, 4 et 4*a*).

Cette dernière conclusion découle déjà des faits signalés dans le protocole de l'expérience-type que j'ai relatée, mais il ne sera pas inutile de les compléter.

Dans la série des 9 expériences que j'ai faites, et qui portaient sur 2149 œufs, j'ai isolé plus d'une centaine de belles segmentations en deux blastomères et je les ai toujours réparties, selon les relations du croissant gris et du point d'entrée du stylet en les 4 lots désignés par : A, B, C, et D, dont le lecteur connaît la composition. La grande majorité de ces œufs sont morts avant la gastrulation, mais 27 ont atteint ce stade. Or, il y a eu, de ce total, 12 gastrulas du lot A, et *toutes*, au moment où l'encoche blastoporale est apparue, étaient identiques et très voisines de celle que représente la fig. 1*a*. La fig. 2*a* pourrait servir à représenter les 5 gastrulas du type B que j'ai obtenues et les fig. 3*a* et 4*a*, les 4 et les 6 gastrulas qui m'ont respectivement fourni les lots C et D.

Cette série de 27 expériences, toutes concordantes, peut se passer de tout commentaire.

La formule générale qui se dégage de tout ce que je viens de dire, peut donc s'exprimer de la façon suivante : *Une action physique, et spécialement la pénétration d'un fin stylet* [1] *suffit*

[1] Il faut cependant que le stylet *pénètre* dans l'œuf. En effet, j'ai, à différentes reprises, et sans aucun succès, déprimé la surface de l'œuf avec le stylet en évitant qu'il entre.

pour produire dans l'œuf de Rana fusca, avec une constance absolue, l'ensemble des manifestations dynamiques qui accompagnent la fécondation normale.

Dès lors, ces manifestations ne tirent leur origine ni de l'amphimixie nucléaire, ni de l'entrée d'un agent vivant ; elles ont leur source dans l'œuf lui-même, et se présentent ici comme une réponse à l'irritation mécanique. L'étude de la polyspermie sur le même matériel, m'avait conduit à une conclusion analogue.

Mais un fait doit encore attirer l'attention : j'ai dit plus haut, que dans l'œuf parthénogénétique, il n'y a aucune relation constante entre ce que l'on peut appeler le méridien de piqûre et le méridien de symétrie bilatérale ; de même, dans les œufs qui entrent en division, le plan de première segmentation est quelconque. Nous savons maintenant que dans la parthénogenèse, comme aussi dans le développement normal ou polyspermique, l'orientation des premiers plans de segmentation n'a aucune influence sur le résultat final, et que dans tous les cas, la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé (par piqûre ou par du sperme) se continue directement dans celle de la gastrula et par conséquent de l'embryon. Cette concordance était à prévoir ; il était utile, toutefois, de la faire ressortir. Mais l'absence de relation entre le méridien de piqûre et celui de symétrie bilatérale doit nous arrêter un instant. On sait (Roux, Brachet, Jenkinson [1]) que dans la fécondation normale, *monospermique*, la traînée de pénétration du spermatozoïde occupe exactement le plan de symétrie bilatérale de l'œuf et en est la cause déterminante : les fécondations localisées de Roux sont très démonstratives à ce point de vue. Dès lors, on s'attendrait à ce que dans la parthénogenèse par piqûre, le stylet se comportât comme un spermatozoïde ; par la méthode de Bataillon, en effet, l'expérimentateur réalise, à chaque piqûre, une sorte de fécondation localisée. Or, il n'en est absolument rien. Le protocole de l'expérience que j'ai relatée le démontre

[1] Jenkinson. *Biometrika*, 1910.

et la série entière des observations le confirme. Les cas comme ceux représentés dans la fig. 1 (Pl. XIII) dans lesquels le rapport entre la piqûre et le croissant gris est celui qu'a normalement le croissant avec la traînée spermatique, ne sont pas plus fréquents que les autres, qu'il y ait ou non segmentation des œufs.

On dira peut-être que sur les 27 gastrulas que j'ai obtenues, il y en a 12 qui sont du type A (fig. 1*a*). Mais ce chiffre est trop faible par lui-même pour qu'on puisse lui attribuer une signification, et il s'abaisse encore si l'on dénombre les œufs segmentés en deux, d'où sont issues 24 des gastrulas. Il y avait 90 œufs, répartis comme suit : 36 A, 22 B, 14 C, 18 D ; et il ne faut oublier que ce classement en catégories n'a rien de mathématique : parmi les 36 œufs du type A, il y en avait sans doute bien peu où le méridien de piqûre et le méridien de symétrie bilatérale coïncidaient strictement.

La conclusion à tirer de ces faits est donc, que *dans la parthénogenèse, c'est la symétrie bilatérale primaire, instable et labile, qui est fixée par la réaction de l'œuf à l'action qu'il a subie. La parthénogenèse et la polyspermie convergent donc pour démontrer l'existence réelle de cette symétrie primaire de l'œuf même, que la monospermie dérange en la remplaçant par une autre* [1].

Il n'est pas étonnant d'ailleurs que la piqûre, même faite avec un stylet aussi fin que possible, n'agisse pas absolument comme le fait un spermatozoïde.

Celui-ci, en effet, pénétrant en un point quelconque de la surface de l'œuf, y produit une irritation localisée, et comme il est très petit, comme il met plusieurs minutes pour accomplir son trajet intraovulaire, cette irritation s'irradie lentement et se propage de proche en proche.

Ainsi s'explique que le spermatozoïde, quand il est unique, puisse remanier la symétrie bilatérale primaire de l'œuf et la détourner à son profit.

[1] V. sur ce sujet mon travail sur la polyspermie, *loc. cit.*, page 52.

Au contraire, le stylet, si fin qu'il soit, est un instrument grossier, dont l'action est plus brutale et surtout beaucoup plus rapide ; si habile que soit l'opérateur, le fil de platine ou de verre a atteint le centre de l'œuf en une fraction de seconde. Aussi l'œuf réagit-il en masse, et presque simultanément dans toutes ses parties, tout comme quand il se sent pénétré en même temps par 8 ou 10 spermatozoïdes.

Dans cet ordre d'idées, une expérience fort intéressante à réaliser, consisterait à faire un très fin fil de platine ou plutôt de quartz, de 1 à 5 μ d'épaisseur, et qui, mû par un mouvement d'horlogerie, mettrait 10 à 15 minutes pour arriver au centre de l'hémisphère supérieur de l'œuf.

*
* *

Passons maintenant à l'examen d'autres résultats expérimentaux.

Tous les œufs présentent les manifestations dynamiques de la fécondation lorsqu'ils sont actionnés par piqûre. Mais il n'y en a qu'un nombre relativement petit qui se segmente.

Dans l'ensemble de mes expériences, en ne tenant compte que des divisions parthénogénétiques qui sont apparues en même temps que chez les témoins, j'ai eu sur 2149 œufs piqués, 208 segmentations, soit 10 %. Mais en entrant dans le détail, on voit qu'il y a eu, entre les séries, des différences considérables, tant quantitatives que qualitatives. Je commencerai par les premières.

Dans l'expérience VI que j'ai décrite plus haut, 180 œufs piqués m'ont donné 35 segmentations, ce qui fait 20 % ; c'est le chiffre le plus élevé que j'aie obtenu. En revanche, dans l'expérience VII, faite le lendemain, dans les mêmes conditions et avec les mêmes instruments, 3 œufs seulement ont commencé à se diviser sur les 180 opérés.

Les 7 autres expériences ont donné tous les intermédiaires entre ces deux extrêmes.

Au point de vue qualitatif, les différences sont tout aussi remarquables. L'expérience VI, à fourni, comme on sait : 27 segmentations bien régulières en 2, 3 en 3, 1 en 4 et 4 en une

mosaïque de blastomères. Mais dans l'expérience VIII, du surlendemain, 250 œufs piqués, examinés 3 $^1/_2$ h. après l'opération, au moment où les témoins commencent à se segmenter en deux, donnent 38 divisions, ce qui, quantitativement est un bon résultat. Mais sur ces 38 œufs, 9 seulement n'ont que deux blastomères, et ils sont en général inégaux, le sillon qui les sépare est ou bien peu profond, ou bien fortement dévié, ou incurvé. Parmis les 29 œufs restants, il y en a 6 qui sont segmentés en 4, et les autres le sont en 3, en 5 ou en une mosaïque de cellules offrant tous les aspects de la " Barockfurchung „. Les 250 œufs avaient cependant un magnifique croissant gris.

Je reviendrai dans un instant sur l'importance de ces différences qualitatives ; auparavant je voudrais insister un peu sur l'uniformité et la constance des manifestations dynamiques, opposées à la rareté relative des segmentations parthénogénétiques. Au moment où je terminais mes recherches, le 15 mars, j'en étais arrivé à cette conclusion que : " la sta-
„ bilisation des localisations germinales, qui prépare et rend
„ possible une ontogénèse régulière, et la mise en marche de
„ cette ontogénèse par des divisions nucléaires et cellulaires
„ répétées, ressortissent de causes au moins partiellement diffé-
„ rentes. La réaction de l'œuf à la piqûre est uniforme et
„ constante ; elle a exactement les mêmes caractères que les
„ manifestations extérieures de la fécondation normale, mais
„ pour que le développement commence, il faut quelque chose
„ de plus, que le stylet ne réalise que rarement.„ C'est ainsi que je m'exprimais dans ma note préliminaire, faite le 3 avril à la Société royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles. Huit jours auparavant, Bataillon faisait à l'Académie des Sciences de Paris une importante communication, dans laquelle il montrait que la piqûre, à elle seule, était impuissante à produire une embryogénèse ; que pour que celle-ci puisse commencer, il fallait que le stylet introduise dans l'œuf des cellules du sang ou de la lymphe, apportant au cytoplasme ovulaire un principe régulateur des mitoses, répondant aux nécessités du

second temps de la parthénogénèse de J. Loeb. Depuis lors, Bataillon a complété ses expériences et en mai dernier [1] il annonçait que la mise en marche pouvait être assurée par les éléments des tissus les plus divers et appartenant aux espèces animales les plus variées.

Je n'ai pas eu l'occasion, jusqu'ici, de vérifier les recherches de Bataillon. Une observation de Henneguy [2] semble plaider contre elles, mais personnellement, je n'ai aucune raison de mettre en doute leur exactitude. Il est évident, toutefois, que le dernier mot n'est pas dit sur ce sujet.

Je reviens maintenant au contraste, si manifeste, entre l'uniformité absolue dans l'apparition des localisations germinales et du croissant gris, après la piqûre, et la variabilité pour ainsi dire infinie de la marche de la segmentation quand elle se produit, et des résultats auxquels elle aboutit.

J'ai déja dit qu'il y a des œufs si régulièrement segmentés en deux qu'ils paraissent normaux, que d'autres ont les deux blastomères inégaux et séparés par un sillon superficiel, onduleux ou recourbé ; j'ai vu parfois le premier sillon apparaître, pour des raisons que j'ignore, au niveau de l'équateur ou même dans l'hémisphère inférieur. D'autres fois, la segmentation est multiple d'emblée, comme dans les œufs tri- et polyspermiques de grenouille.

Nous savons que, partout où la parthénogenèse expérimentale a pu être réalisée, des variations analogues de la segmentation ont été constatées, et l'on peut prévoir que l'analyse cytologique que fait en ce moment Bataillon, donnera des résultats fort semblables à celles que d'autres auteurs ont faites chez les Echinodermes ou chez les Mollusques.

En ce qui concerne les résultats éloignés de la parthénogenèse chez la grenouille, mes constatations sont d'accord avec celles de Bataillon et de Henneguy. Les œufs qui ont subi une segmentation multiple d'emblée ne vivent jamais longtemps. J'en

---

(1) Bataillon. *Loc. cit. f.*

(2) Henneguy. *Loc. cit.*

ai cependant vu un, divisé en 3, qui a gastrulé, mais la gastrula est devenue un large spina bifida, qui est mort au bout de quelques heures.

Même les œufs les plus régulièrement clivés donnent une mortalité très grande et à tous les stades ; un petit nombre d'entre eux franchit la gastrulation, et bien peu ont pu, jusqu'ici, commencer leur métamorphose. L'avenir nous apprendra s'ils pourront aller aussi loin ou plus loin que les petits Oursins de Delage.

Pourquoi cette mortalité énorme ? L'infection, qu'invoque Bataillon, n'est certainement pas seule en cause, et le déséquilibre des divisions mitosiques joue, dans les jeunes stades, un rôle capital. Mais il est impuissant à expliquer la mort des jeunes embryons et des larves. Est-elle due à une faiblesse congénitale ?

Henneguy nous dit que les têtards parthénogénétiques sont plus petits que les normaux, mais cela n'implique pas qu'ils soient moins bien constitués. Il y a là matière à des recherches intéressantes, et il est prudent, avant d'aller plus loin, d'en attendre les résultats.

Cette mortalité énorme à *tous les stades* et l'impossibilité, pour les segmentations multiples, d'aboutir à la formation d'embryons, contraste avec ce qui se passe dans les œufs trispermiques et polyspermiques que Herlant et moi avons étudiés. Certes chez eux aussi la mortalité est grande, mais nous avons pu en déterminer très exactement les causes. J'ai vu, d'autre part, un œuf au moins pentaspermique et divisé d'emblée en cinq blastomères au moins, vivre pendant 10 jours et aboutir à un petit têtard ; et Herlant a vu des larves de 2 et 3 mois se développer aux dépens d'œufs trispermiques.

Or, une remarque se présente à l'esprit. Dans la parthénogénèse, la mise en marche des divisions nucléaires est amenée par l'introduction dans l'œuf d'un "principe régulateur" contenu dans le sang, la lymphe, ou les tissus de l'animal. Il est probable que ce principe régulateur, s'il pénètre en trop grande quantité, troublera l'ordre régulier des mitoses, peut-

être en les précipitant et il en résultera tôt ou tard un avortement des processus ontogéniques.

Mais l'influence quantitative de ce principe, qui n'est d'ailleurs que probable et non encore démontrée, ne donne aux faits qu'une explication insuffisante.

En effet, dans la polyspermie, quand 8, 10 ou 15 spermatozoïdes entrent dans l'œuf, la quantité du "principe„ est 8, 10 ou 15 fois plus grande que la normale, et nous savons cependant que le déséquilibre des mitoses n'est nullement fatal ; qu'au contraire, s'il se produit, c'est pour des causes fortuites, pour ainsi dire accidentelles et que dans un certain nombre de cas, l'œuf peut gastruler et ébaucher un embryon. Il est vrai que cet embryon meurt toujours, mais j'ai pu trouver pourquoi et le "principe„ n'a rien à voir avec ce décès prématuré.

Aussi peut-on se demander si le "principe régulateur„ de Bataillon, est réellement sans aucune spécificité, si les éléments cellulaires quelconques, le renferment toujours identique. Les enseignements de la polyspermie m'inclinent à croire, que le principe renfermé dans les spermatozoïdes a, tout au moins, un pouvoir régulateur un peu plus grand que celui qui est renfermé dans le sang ou dans la lymphe du même animal, ou d'un individu d'une autre espèce.

Mais, dans tout ce que je viens de dire en terminant ce travail, il ne faut voir que de simples réflexions qui n'ont d'autre prétention que de chercher un fil conducteur pour des recherches positives.

APPENDICE

Structure histologique et nombre de chromosomes dans un têtard parthénogénétique de 18 jours.

Il s'agit ici du petit têtard dont j'ai parlé plus haut, et qui, me paraissant malade, avait été fixé au liquide de Bouin. J'en ai coloré les coupes à l'Hématoxyline ferrique.

Anatomiquement et histologiquement, il m'a paru absolument normal. J'ai bien relevé quelques petits détails, mais ils sont si minimes, que je n'oserais pas leur attribuer d'importance ni même les signaler, avant d'avoir minutieusement étudié un important matériel de comparaison.

Mais, mes préparations étant très bonnes, j'ai cherché, sur cette larve, à déterminer le nombre de chromosomes dans les cellules en mitose. Bataillon croit que ce nombre est réduit : il n'en a jamais vu plus de 12. Dehorne, lui, par une erreur certaine et que je ne m'explique pas, réduit à 12 le nombre *normal* chez la grenouille, et n'en trouve que 6 dans les larves parthénogénétiques.

J'ai, pour ma part, examiné soigneusement de nombreux noyaux, à tous les stades de la karyokinèse, et cet examen, fort difficile, m'a laissé perplexe.

Sur ma larve parthénogénétique, j'en suis arrivé à douter que le nombre des chromosomes soit le même dans toutes les cellules, mais il est certain que dans de nombreux cas il est de beaucoup supérieur à 12. J'ai vu des plaques équatoriales et des spirèmes composés d'*au moins* 20 segments chromatiques.

Delage a donc raison quand il soutient, contre plusieurs contradicteurs, que dans les larves parthénogénétiques d'oursins il s'est produit une régulation du nombre des chromosomes. Elle existe aussi dans les têtards de grenouille obtenus par

piqûre. Mais je ne puis dire si elle est complète, si elle est uniforme, ni comment elle se fait.

Et ici encore, la comparaison de la parthénogenèse et de la polyspermie soulève un nouveau problème.

Dans les embryons polyspermiques et dispermiques d'Echinodermes et de grenouille, Boveri, Herlant et moi, avons montré que l'on reconnaît encore une zone à amphicaryons et une zone à monocaryons. Dans cette dernière, il est très probable que le nombre des chromosomes est resté réduit de moitié.

La régulation dont le pronucleus femelle est capable dans la parthénogénèse, serait-elle impossible pour un pronucleus mâle ? Il y a peut-être là matière à des recherches fructueuses.

Vitellogenèse dans l'ovule de Chatte.

PAR LE

Dr René VANDER STRICHT

[*Travail fait au laboratoire d'histologie et d'embryologie de l'Université de Gand*] (1)

(Planches XIV à XIX et 3 figures dans le texte)

INTRODUCTION. MATÉRIEL. TECHNIQUE.

En entamant la question de la vitellogenèse dans l'ovule de chatte, nous nous sommes trouvé devant un champ d'étude extrêmement vaste. Nous aurions pu borner nos recherches à l'étude des modifications vitellines et nucléaires intéressant la période de croissance de l'oocyte de premier ordre, c'est-à-dire depuis sa première apparition jusqu'à son complet développement ; mais, chez les mammifères, les transformations vitellines ne se limitent pas à la croissance ovulaire et ne sont pas achevées vers l'époque de la rupture folliculaire ; elles continuent pendant toute la période de la migration de l'ovule à travers l'oviducte, par conséquent pendant la maturation, la fécondation et le début de la segmentation.

(1) Ce mémoire a été déposé au ministère des sciences et des arts le 31 janvier 1909. Il était adressé en réponse à une question de concours universitaire ainsi formulée : « Etudier la vitellogenèse dans l'ovule de chatte ». Il a été présenté ensuite au concours des Bourses de voyage pour 1910. Il a été couronné et classé premier à ces deux concours.

Quelques auteurs récents se sont occupés de la vitellogenèse chez d'autres mammifères, voisins de la chatte ; ils nous ont fourni des indications très précieuses au sujet de ce processus si important et très compliqué. Grâce à leurs recherches, il nous a été possible d'embrasser cette étude dans ses limites les plus larges et d'étendre nos recherches jusqu'au début de la segmentation.

Il a été relativement facile de réunir les matériaux nécessaires pour la première partie de notre mémoire.

Nous avons sacrifié de nombreuses chattes à différentes époques de l'année et à tous les âges de la vie, à partir de la naissance jusqu'à l'âge adulte accompli. L'âge des ovaires a été déterminé approximativement, les renseignements donnés à ce point de vue par les fournisseurs étant souvent peu précis.

Trouvant les oocytes les plus jeunes dans les ovaires de nouveau-nés et de chattes âgées de quelques jours, il nous a paru superflu de recueillir des embryons.

Ce premier stock d'ovaires permit de faire un nombre considérable de préparations et d'étudier d'une façon détaillée l'œuf à partir de la dernière division des oogonies jusqu'à son complet développement.

Réunir la collection de pièces nécessaires pour l'étude de la seconde partie de cet ouvrage, c'est-à-dire de la maturation et de la fécondation, a été chose plus difficile.

Le seul moyen d'obtenir des matériaux suffisants est d'entretenir plusieurs chattes en captivité dans des cages, en compagnie d'un ou de deux mâles, de manière à pouvoir observer l'accouplement et l'époque du rut. Comme nous allons le démontrer à l'instant, von Winiwarter et Sainmont (63) font erreur, quand ils disent que la chatte ne se laisse pas couvrir en captivité. La chose n'est en somme pas facile ; la chatte est habituée à vivre en liberté et ne se reproduit que très difficilement quand elle est tenue captive. Malgré de sérieuses difficultés, nous sommes parvenu, à la suite de soins assidus, à élever une série de chattes recueillies un peu avant la période du rut, qui se manifeste vers le mois de février et dure environ deux à quatre jours.

Dès le mois de décembre de l'année 1906, nous avons fait acheter le plus grand nombre d'animaux possible, auxquels nous avons donné trois mâles. Ils ont été enfermés dans un grand pavillon, bien protégés contre toutes les intempéries de l'hiver, notamment contre le vent et la pluie. A certaines époques on en comptait une trentaine. Il s'agissait avant tout de les nourrir convenablement et de prendre tous les soins de propreté nécessaires pour prévenir les maladies.

Grâce à une surveillance rigoureuse et journalière, nous avons pu obtenir, de la part du garçon du laboratoire, ces soins continus, de manière à maintenir un état de santé relativement satisfaisant pour le plus grand nombre de nos animaux. En fait de nourriture, ils recevaient régulièrement deux repas par jour, consistant principalement en viandes bouillies et en lait chaud. Quand quelques-uns manifestaient des symptômes d'entérite, on leur donnait surtout du lait additionné d'un peu de sous-nitrate de bismuth.

Malgré toutes ces précautions, ces animaux tenus en captivité n'entrent pas en rut au mois de janvier, ni au mois de février, comme la plupart des autres chattes domestiques. La période de chaleur est très notablement retardée. Quelques femelles, achetées au mois de février, acceptaient le mâle après quelques jours de captivité, mais la plupart de celles retenues en cage dès le mois de décembre ou de janvier, ont montré un retard très grand au point de vue de la période de chaleur.

Afin d'obtenir un matériel aussi précieux que possible, il s'agissait de surveiller les femelles de très près, de manière à pouvoir les sacrifier avant et pendant la période de chaleur et même un à deux jours plus tard. L'aide du garçon du laboratoire nous était indispensable. En face du pavillon en question, existent différentes chambres, d'où on pouvait les observer durant toute la journée. Elles étaient pour ainsi dire en observation continuelle ; il était cependant impossible de les surveiller après huit heures du soir et durant la nuit.

Une chatte en chaleur manifeste des mouvements très caractéristiques. Généralement elle jette des cris particuliers en même temps qu'elle s'allonge, l'abdomen courbé contre le sol,

les membres postérieurs fléchis et la partie postérieure du tronc redressée en haut et animée d'un mouvement continu, accompagné d'un balancement de la queue. Chose curieuse, un mâle unique (sur 3 ou 4) et toujours le même, paraît s'intéresser à ce jeu et à un moment donné il s'élance sur la femelle, qu'il retient le plus souvent sous lui, toujours dans la même position, jusqu'à ce que le coït soit accompli. On est ordinairement averti de cet acte par un cri ou plusieurs cris aigus lancés par la femelle; le mâle s'en éloigne rapidement et la femelle continue alors à se rouler dans tous les sens contre le sol.

Ces quelques détails paraissent avoir leur importance, pour montrer qu'il nous était toujours relativement facile d'être averti d'un accouplement d'une femelle en chaleur.

Plusieurs chattes ont montré les signes du rut, sans que nous ayons pu constater l'accouplement. Généralement quelques semaines plus tard le rut réapparaissait et était accompagné d'accouplement.

Les chattes, tuées au chloroforme, sont disposées sur un grand plat. La paroi abdominale est largement ouverte. On met à nu un premier ovaire, le gauche, qu'on excise avec l'oviducte y attenant et la corne utérine correspondante. Pendant qu'on examine ces organes, on ferme autant que possible la cavité abdominale, afin de ne pas exposer à l'air l'ovaire droit pendant le temps parfois relativement long, nécessité par l'examen de celui du côté gauche.

Nous examinons rapidement l'ovaire gauche. Si nous constatons la présence de follicules très volumineux, sans traces de corps jaune récent, à l'aide de fins ciseaux nous excisons très prudemment le follicule de De Graaf que nous plongeons directement dans le liquide fixateur. S'il en existe d'autres, nous les fixons par des réactifs différents, afin de pouvoir comparer ainsi plusieurs ovules arrivés à peu près au même stade d'évolution, mais fixés par des liquides différents.

Le temps nécessaire à cette petite opération est très court, et rapidement on peut traiter de la même manière l'ovaire droit.

Si, au contraire, on aperçoit soit à l'œil nu, soit à l'aide

d'une bonne loupe, un ou plusieurs follicules de De Graaf rompus, il s'agit alors de rechercher avant tout l'œuf dans l'oviducte.

Pour étudier l'œuf extraovarique, plusieurs procédés sont indiqués :

1° On peut plonger l'ovaire avec l'oviducte entier, ou bien tout l'oviducte sans l'ovaire dans le liquide fixateur, le durcir ensuite et l'enrober dans la paraffine.

Les préparations sériées, bien réussies, montrent toujours les œufs qu'on peut étudier assez facilement.

Ce procédé offre peut-être certains avantages, à côté de grands inconvénients. L'oviducte d'une chatte présente une grande longueur et dans son ensemble il représente un fragment tellement volumineux, que les meilleurs fixateurs, à cause de leur imprégnation lente, n'atteignent que très tardivement les ovules en question. Il doit en résulter une fixation défectueuse. De plus l'histologiste le plus expérimenté doit reculer devant les difficultés inhérentes au procédé des coupes sériées de ces organes si volumineux, ne renfermant parfois qu'un seul œuf intéressant.

Malgré l'enrobage le plus soigné, on ne peut employer les microtomes du modèle Minot pour couper l'oviducte. Il faut faire usage d'un microtome Schanze, capable d'obtenir de bonnes séries d'un œuf de mammifère. Le microtome Minot les écrase et tout le travail est perdu.

Malgré ces désavantages nous avons obtenu quelques œufs, très bien fixés et très bien coupés à l'aide du microtome Schanze, à l'intérieur de l'oviducte.

2° Une méthode qui donne également de bons résultats et que nous avons utilisée plusieurs fois, est la suivante : Après avoir soigneusement disséqué l'oviducte, on met une ligature à l'extrémité distale de celui-ci, le plus près possible de son abouchement dans la corne utérine, puis, en promenant le dos d'un scalpel sur toute la longueur de l'oviducte, on refoule le contenu vers le tiers distal, après quoi on pose une seconde ligature à ce niveau. Dans ce segment utérin, sectionné, on a emprisonné

les ovules, qui se laissent fixer très bien et couper très facilement.

3° Dans le but de gagner du temps et surtout d'obtenir une fixation plus rapide et meilleure, nous avons eu recours souvent à un autre procédé, consistant à fixer les œufs isolés, extraits de l'oviducte.

On peut atteindre ce résultat de deux manières :

a) en balayant le contenu de l'oviducte par une injection de liquide physiologique ou de fixateur.

b) en exprimant le contenu de l'oviducte à l'aide d'une aiguille ou du rebord d'un scalpel. Nous avons eu recours le plus souvent à cette méthode pour la fixation des œufs extraovariques Voici comment on peut la réaliser facilement.

L'oviducte bien disséqué et étendu en longueur, est coupé en trois segments, à peu près de même longueur, un segment ovarique, un segment moyen et un segment utérin. Les œufs extraovariques, à peine expulsés de l'ovaire, siègent généralement dans le tiers moyen ou bien dans le tiers utérin de cet organe. On étale chaque segment sur une lamelle porte-objet et, à l'aide d'une aiguille ou d'un scalpel, on comprime la paroi de la trompe, en refoulant le contenu de l'extrémité tournée vers l'ovaire, vers celle dirigée du côté de l'utérus. On refoule de cette manière non seulement les œufs, mais encore le mucus renfermé dans la lumière de ce canal et des débris de la muqueuse. Les œufs sont ordinairement évacués au milieu de la première gouttelette exprimée. On peut les examiner à l'état frais. Ils n'ont subi aucune altération mécanique. Nous les fixons ensuite directement au moyen d'une goutte de liqueur de Flemming, ou bien (le plus souvent) à l'aide des vapeurs d'une solution aqueuse d'acide osmique à 2 %.

A l'état frais les œufs de chatte sont très faciles à reconnaître. A l'œil nu on les voit sous l'aspect d'une petite perle, blanchâtre, caractéristique. Au microscope, à l'aide d'un objectif faible, on les aperçoit sous forme d'une masse granuleuse sphérique, opaque, entourée de la zone pellucide, et parfois, quand il s'agit de stades jeunes, de l'épithélium ovulaire. Après la fixation par la liqueur de Flemming ou par les vapeurs osmiques.

l'œuf devient rapidement noir. Les nombreuses boules graisseuses se colorent en noir et au microscope le vitellus se montre bourré de granulations noirâtres.

Grâce au mucus qui entoure l'ovule et qui est également coagulé, on détache très facilement l'œuf, siégeant au milieu du coagulum, de la lamelle porte-objet, et on le plonge dans le fixateur. Ce coagulum, relativement petit, peut subir toutes les manipulations exigées par le lavage, par le durcissement et par l'enrobage dans la paraffine. Un œuf tout à fait isolé peut être traité de la même manière, mais à cause de son petit volume, on le perd très facilement, surtout au moment de l'enrobage.

Ce procédé de fixation des œufs extraovariques offre le grand avantage de permettre l'examen de l'ovule à l'état frais, au moment où il est exprimé de l'oviducte. Nous relaterons plus loin les détails observés lors de cette étude.

En opérant de cette manière, nous avons pu fixer et étudier un nombre d'œufs très considérable, auquel nous ne nous attendions pas en entreprenant ces recherches, et suffisant pour étudier la question de la vitellogenèse de l'œuf de chatte, non seulement au stade de l'accroissement, mais encore au stade de la fécondation et du début de la segmentation de l'œuf.

Nous nous sommes proposé de dresser ici une liste des chattes sacrifiées et des matériaux fournis par chacune d'elles, en ne tenant compte que de celles maintenues en captivité jusqu'au moment de la période de chaleur. Mais avant cela, nous donnerons encore quelques généralités concernant la technique.

Les fixateurs employés pour l'ensemble de cette étude ont été multiples. Le procédé de fixation de Benda, la liqueur de Flemming et celle de Hermann ont donné des résultats précieux; ils ont l'avantage de ne pas produire de rétraction et de mettre en évidence presque toutes les parties constituantes du cytoplasme, tels que corps vitellin, couche vitellogène, mitochondries, graisse et autres éléments vitellins. La graisse colorée en noir par l'acide osmique, parfois nuisible par son

abondance à la netteté des images, peut être dissoute dans l'essence de térébentine.

Le sublimé alcoolique acétique, la liqueur picrique de Bouin et le liquide de Zenker ont donné de bons résultats pour les figures nucléaires et certains éléments cytoplasmiques.

Ont encore été utilisés comme fixateurs, la liqueur de Perennyi, la solution aqueuse de sublimé à 2 % et un mélange à parties égales de liquide de Zenker et de sublimé alcoolique acétique.

Après durcissement dans les alcools à 50°, 60°, 70°, les pièces, fixées par les liqueurs ne renfermant pas d'acide osmique, ont séjourné pendant un à cinq mois dans l'alcool à 70° iodé, ont ensuite été colorées en bloc par le carmin, déshydratées et enrobées dans la paraffine à l'aide du chloroforme ou du sulfure de carbone. Celles fixées par la liqueur de Flemming ont été traitées, après durcissement dans les alcools successifs, pendant cinq à quinze jours par l'alcool 70° acidulé par l'acide chlorhydrique (deux gouttes pour cent).

Toutes les coupes ont été faites au microtome Schanze et collées la plupart sur porte-objet ; quelques coupes appartenant à des ovaires jeunes, non collées sur lamelle porte-objet et traitées dans des godets, ont donné d'excellents résultats au point de vue de la coloration des mitochondries.

Les colorations employées sont celles à la safranine (après fixation par les liqueurs osmiées) et à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain, suivie ou non de la coloration au vert-lumière ou au chromotrope, ce dernier présentant une grande affinité pour le corps vitellin.

Les phénomènes de la maturation et de la fécondation constituant la partie la plus compliquée de cette étude, nous avons, dans le but de faciliter nos interprétations, examiné soigneusement une à une les coupes de la plupart des œufs extra-ovariques colorés préalablement par le carmin, et noté tous les éléments mis en évidence par ce colorant. De cette façon, nous avons pu identifier ces parties avec celles, mises en évidence sur les mêmes préparations, après la coloration par l'hématoxyline ferrique.

Pour la démonstration nous avons ajouté à ce mémoire une série de dessins et de photographies, exécutés par nous. Les premiers ont été tous faits à l'aide de l'oculaire dessinateur de Leitz, à la hauteur de la platine du microscope, et de l'objectif $^1/_{12}$, immersion à l'huile Leitz; de sorte que tous nos dessins sont comparables au point de vue du grossissement, qui correspond à 570 diamètres.

Pour les microphotographies, nous nous sommes servi de l'objectif apochrom. Zeiss, 3 mm., hom. imm., et de l'oculaire de projection (ouverture 3,3). Le tirage de la chambre noire a été de 75 cm. Le grossissement ainsi obtenu est approximativement analogue à celui de nos dessins.

Liste des chattes sacrifiées pendant la période du rut, et série des ovules ovariques et des ovules extraovariques obtenus.

En faisant abstraction des oocytes jeunes et des ovules propres aux follicules de De Graaf de moyenne grandeur, tels qu'on en trouve par centaines et par milliers dans les ovaires de jeune chatte et de chatte adulte, nous énumérerons ici brièvement les ovules appartenant à des femelles sacrifiées soit au moment du rut, soit quelque temps avant ou après l'époque de chaleur.

Nous leur donnerons un numéro d'ordre, ainsi qu'aux femelles qui ont servi à ces observations. Nous donnerons tous les renseignements notés au sujet de ces dernières, qui peuvent présenter un certain intérêt au point de vue des rapports qui existent entre l'époque de la rupture des follicules de De Graaf et la période du rut, et au sujet du stade d'évolution des œufs au début, vers la fin et après la période de chaleur.

Ire Chatte sacrifiée à peu près un jour après le premier accouplement observé, le 17-III-07. Elle donne trois œufs ovariques.

1) Un ovule ovarique au stade de la genèse du premier fuseau de maturation. Fixation par la liqueur de Flemming.

2) Un ovule id. Fixation id.

3) Un ovule id. Fixation id.

IIe Chatte sacrifiée au second jour du rut, le 23-III-07.

Elle donne :

4) Un œuf ovarique au stade du second fuseau de maturation. Fixation par le procédé de Benda.

5) Un œuf id. Deux corps énigmatiques. Fixation par la liqueur de Bouin.

6) Un œuf id. Un corps énigmatique. Fixation id.

IIIe Chatte sacrifiée après un jour de rut, le 27-III-07.

Elle donne quatre ovules ovariques au stade du second fuseau de maturation.

7) Un œuf ovarique au stade du second fuseau. Fixation par le procédé de Benda. Graisse assez abondante.

8) Un œuf id. Fixation id. Il renferme très peu de graisse.

9) Un œuf id. Fixation par la solution de sublimé à 2 %. Graisse peu abondante.

10) Un œuf id. Fixation id. Graisse assez abondante. Un corps énigmatique dans le voisinage du premier globule polaire.

IVe Chatte sacrifiée après deux jours de rut, le 26-III-07.

L'ovaire renferme des corps jaunes ; les œufs renfermés dans l'oviducte n'ont pas été étudiés ; mais l'ovaire contient un grand follicule qui paraît arrivé à maturité. En réalité les coupes montrent qu'il y existe :

11) Un œuf au stade du second fuseau de maturation. Il paraît atrésique, car l'épithélium ovulaire est en partie atrophié et sous la zone pellucide, on trouve quelques globules blancs migrateurs. Ce follicule est intéressant, car il démontre que les follicules volumineux non rompus qu'on observe à côté de follicules rompus, portent des signes d'atrésie et ne subissent pas la déhiscence.

Ve Chatte sacrifiée au début du rut, après le premier accouplement observé, 6-IV-07. Elle donne :

12) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement, muni d'une vésicule germinative périphérique. Fixation par le procédé de Benda.

13) Idem. Fixation id.

14) Idem. Fixation par le liquide de Bouin. Deux corps énigmatiques.

15) Idem. Fixation par la solution de sublimé à 2 %.

16) Idem. Fixation id.

VIe Chatte sacrifiée au début du rut le 27-IV-07. Elle donne :

17) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement, renfermant une vésicule germinative périphérique. Fixation par la solution de sublimé à 2 %. Graisse peu abondante. Un corps énigmatique.

18) Un œuf id. Graisse abondante. Un corps énigmatique. Fixation par le liquide de Bouin.

19) Un œuf id. Graisse abondante. Un corps énigmatique. Fixation par le procédé de Benda.

VIIe Chatte sacrifiée le premier jour du rut, 6 heures après le premier accouplement observé, le 27-IV-07. Elle donne :

20) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germinative périphérique. Fixation par le procédé de Benda. Un corps énigmatique.

21) Un œuf id. Fixation par la liqueur de Bouin. Un corps énigmatique. Graisse assez abondante.

22) Un œuf id. Fixation id. Graisse abondante. Un corps énigmatique.

23) Un œuf id. Fixation par la solution de sublimé à 2 %. Deux corps énigmatiques.

VIIIe Chatte sacrifiée un jour et demi après le premier accouplement observé, le 11-IV-07. Elle donne :

24) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germinative périphérique. Un corps énigmatique. Procédé de Benda.

25) Un œuf id. Graisse abondante. Deux corps énigmatiques. Fixation par la solution de sublimé à 2 %.

IXe Chatte en chaleur le 16-III-07 ; accouplement le 17. Le 18, elle n'est plus en chaleur. Sacrifiée le matin. Elle donne :

26) Un œuf id. Graisse peu abondante. Un corps énigmatique. Fixation par la liqueur d'Hermann.

27) Un œuf id. Graisse peu abondante. Un corps énigmatique. Fixation par le liquide de Flemming.

Xe Chatte en chaleur le 22 mars, mais on ne voit pas d'ac-

couplement. Signes de chaleur manifestes les 27, 28 et 29 mars. Sacrifiée le 29 mars. Pas d'ovules dans l'oviducte. Elle donne :

28) Un œuf ovarique au stade du premier fuseau de maturation.

Graisse abondante. Un corps énigmatique. Fixation au Flemming.

29) Un œuf id. Graisse moins abondante. Fixation id.

30) Un œuf id. Fixation par le sublimé alcoolique acétique.

31) Un œuf id. Fixation par le liq. de Perennyi.

XIe Chatte en chaleur les 27, 28 et 29 mars : sacrifiée le 30-III-07. On n'a pas vu d'accouplement. L'ovaire droit montre un grand follicule mûr, l'ovaire gauche deux follicules mûrs. Pas de follicules rompus. Elle donne :

32) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement, muni d'une vésicule germinative périphérique. Graisse abondante. Un corps énigmatique. Fixation par la liq. de Flemming.

33) Un œuf id. Graisse abondante. Deux corps énigmatiques. Fixation par la liq. de Bouin.

34) Un œuf id. Graisse id. Un corps énigmatique. Fixation par la liqueur de Flemming.

XIIe Chatte. Essai d'accouplement le 1er avril. Le 2 avril rien à voir. Sacrifiée le 3-IV-07. Pas de follicules rompus. Elle donne :

35) Un œuf id. Graisse abondante. Un corps énigmatique. Fixation par la liq. de Flemming.

XIIIe Chatte. Accouplement le 4-V-07. Encore en chaleur le 5. Le 6 plus rien à voir. Sacrifiée le [illegible]-V-07. Pas de follicules rompus. Elle donne :

36, 37, 38, 39) Quatre œufs ovariques à la fin du stade d'accroissement et munis d'une vésicule germinative périphérique. On trouve au sein du vitellus de nombreux corps à structure bizarre, et que nous considérons comme étant des parasites.

XIVe Chatte accouplée le 7-V-07. On ne voit rien le 8 ; sacrifiée le 10-V-07. On trouve un ovule dans le 1/3 utérin de l'oviducte (pas étudié). Elle donne :

40) Un œuf ovarique au stade du second fuseau de maturation. Fixation par la liq. de Flemming. Œuf normal (?).

41) Un œuf id. Fixation id. Œuf normal (?).

XVe Chatte sacrifiée pendant la période du rut le 20-V-07. Elle donne :

42) Un œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement, muni d'une vésicule germinative périphérique. Fixation par la liq. de Flemming.

XVIe Chatte, en chaleur le 3 mars. Accouplements répétés le 4 mars. Le 5 mars elle est encore en pleine chaleur et il y a accouplement. Le 6 mars elle ne manifeste plus de signes de rut : sacrifiée à 9 heures, donc deux jours après le premier accouplement observé, mais trois jours après le début du rut. L'ovaire gauche montre cinq follicules rompus, l'ovaire droit un follicule rompu et un follicule non rompu. Elle donne :

43) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte, fixé par la liqueur de Flemming. Il est entouré de sa zona coronata. Il renferme des boules graisseuses relativement peu nombreuses. Il montre deux globules polaires au pôle végétatif. Dans le voisinage, on observe un jeune pronucléus femelle. Deux corps énigmatiques non loin de ce pôle.

44) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte, fixé par la liqueur de Bouin. Deux globules polaires. Deux petits pronucléus voisins. Deux corps énigmatiques. Les deux pronucléus et les deux globules polaires paraissent siéger au pôle plastique.

45) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte, fixé par le sublimé alcoolique acétique. Il est entouré de son épithélium ovulaire ; on voit un globule polaire et dans le voisinage, à l'intérieur du vitellus, une sorte de petit noyau au repos. Amas de segments chromatiques : ébauche du pronucléus femelle (?). Un corps énigmatique. Polarité peu distincte.

46) Un œuf id., fixé par la liqueur de Bouin. Deux corps énigmatiques. Un pronucléus femelle ébauché dans le voisinage des deux globules polaires et un pronucléus mâle ébauché.

47) Un œuf id., fixé par la liqueur de Hermann. L'épithélium ovulaire adhère encore partiellement à l'œuf. Deux globules polaires. Corps énigmatique. Le pronucléus femelle ébauché sous forme de chromosomes (comme pour l'œuf 46) siège dans

le voisinage des globules polaires au pôle deutoplasmique. Le pôle opposé est plastique.

48) Un œuf id., fixé par le sublimé alcoolique acétique. A peu près dépourvu de son épithelium ovulaire. Pourvu d'un globule polaire. Second fuseau de maturation (?) au pôle deutoplasmique. Deux corps énigmatiques.

Cette chatte nous a fourni en outre :

Un œuf ovarique au stade du 2d fuseau de maturation, fixé par la liq. de Hermann. C'est un follicule qui ne va pas subir la déhiscence, son épithélium folliculaire est envahi par les capillaires sanguins.

XVIIe Chatte. Deux accouplements le 30-III-07, vers 4 $^1/_2$ heures du soir. Encore en chaleur le 1-IV-07. Sacrifiée le 2-IV-07 à 10 heures, donc un jour et 17 $^1/_2$ heures après le 1er accouplement observé. Elle donne :

49) Un œuf dans le 1/3 moyen de l'oviducte gauche, fixé par la liq. de Flemming. Second fuseau de maturation et premier globule polaire. Epithélium ovulaire détaché.

50) Un œuf id., fixé par la liqueur de Bouin. Deux globules polaires. Un jeune pronucléus femelle. Un corps énigmatique.

51) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte gauche, fixé par le sublimé alcoolique acétique. Deux globules polaires. Deux petits pronucléus au pôle plastique. Un corps énigmatique.

52) Un œuf dans le pavillon de la trompe droite, fixé par la liqueur de Hermann. Il montre deux pronucléus, deux globules polaires et un corps énigmatique.

XVIIIe Chatte. En chaleur manifeste les 16 et 17 mars, mais on n'aperçoit pas d'accouplement. Sacrifiée le 18-III-07, donc après deux jours de rut. Elle donne :

53) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte gauche, fixé par la liq. de Bouin. On trouve un pronucléus femelle assez petit au pôle plastique, deux globules polaires voisins, un spermatozoïde entré (?), un corps énigmatique au pôle deutoplasmique opposé.

54) Un œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte droit, fixé par le sublimé alcoolique acétique. Il montre un pronucléus femelle au

pôle plastique, un spermatozoïde. On ne voit pas les globules polaires, ni le corps énigmatique.

55) Un autre œuf dans le 1/3 utérin de l'oviducte droit, fixé aux vapeurs osmiques, et monté dans la glycérine ; il ne montre rien de bien net.

XIXe Chatte. Se montre en chaleur le 23 mars, accouplements à 2 heures et 3 heures de l'après-midi. On ne voit pas d'accouplement le 24. Sacrifiée le 25-III-07 à 10 heures, donc un jour 20 h. après le 1er accouplement observé. Elle donne :

56) Un œuf dans le tiers utérin de l'oviducte, fixé par la liq. de Flemming. Il montre un pôle plastique voisin de 2 globules polaires, un pronucléus femelle et un pronucléus mâle.

57) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. On ne voit pas les globules polaires, ni les pronucléus.

58) Un œuf id., fixé par la liq. de Hermann. Il montre un globule polaire dans le voisinage duquel on voit un pronucléus femelle ébauché et une ébauche de pronucléus mâle (spermatozoïde).

XXe Chatte. Deux accouplements le 31-III-07. On n'observe plus de signes de chaleur le 1er et 2 avril. Sacrifiée le 2-IV-07, donc le second jour après le 1er accouplement observé. Elle donne :

59) Un œuf dans le tiers utérin de l'oviducte gauche, fixé par la liqueur de Bouin. Il montre deux globules polaires et un pronucléus femelle ébauché. L'épithélium ovulaire entoure cet œuf.

60) Un œuf id., fixé par la liq. de Hermann. A l'état frais il se montre divisé en deux. Il possède encore son épithélium ovulaire. Il est manifestement divisé en deux blastomères à noyau lobulé. Les globules polaires ne sont pas très nets. Les deux noyaux sont excentriques et se trouvent du côté du pôle plastique.

61) Un troisième œuf dans le tiers utérin de l'oviducte gauche, fixé par le Flemming, est mal coupé et ne permet pas une étude détaillée des parties constituantes.

XXIe Chatte en chaleur le 1-IV-07, mais pas d'accouplement à voir. On n'aperçoit plus de manifestations de rut le 2

avril, le 3 on voit des signes de chaleur encore manifestes et un accouplement à 4 $^3/_4$ heures de l'après-midi. Sacrifiée le 5 à 8 h. du matin, donc un jour 15 heures après le premier accouplement observé. Elle donne :

62) Un œuf dans le tiers moyen de l'utérus, fixé par la liq. de Flemming.

63) Un œuf id., fixé par la liqueur de Bouin.

Ces deux œufs sont mal coupés et ne peuvent servir à une étude détaillée de l'ovule.

XXIIe Chatte. Accouplements le 15 avril à 11 $^1/_2$ h. et à 3 $^1/_2$ h. de l'après midi ; encore en chaleur le 16. Sacrifiée le 17-IV-07, à 3 heures de l'après-midi, donc 2 jours 3 $^1/_2$ h. après le premier accouplement observé. L'ovaire gauche montre trois follicules rompus, l'ovaire droit deux follicules rompus. Elle donne :

64) Un œuf dans le tiers utérin de l'oviducte, fixé par le sublimé alcoolique acétique. Cet œuf montre deux globules polaires en un endroit de la périphérie du vitellus, intermédiaire entre le pôle plastique et le pôle deutoplasmique. Les deux pronucléus siègent au pôle plastique. Un corps énigmatique est bien visible au pôle deutoplasmique, entouré d'un vitellus granuleux plastique.

65) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. Il montre deux globules polaires au pôle deutoplasmique, deux pronucléus. Le corps énigmatique n'est pas retrouvé.

66) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. A l'état frais, il montre une polarité très manifeste. Au pôle plastique, finement granuleux, on observe deux aréoles claires, les deux pronucléus. L'autre moitié du vitellus est remplie de boules volumineuses très réfringentes, à peu près toutes de même volume.

Il montre un globule polaire (?), deux pronucléus au pôle plastique, voisin du globule polaire et deux corps énigmatiques, entourés d'un vitellus granuleux.

67) Un œuf id. A l'état vivant, il montre deux aréoles claires (pronucléus) à peu près périphériques. Tout le reste de l'oeuf est rempli de boules volumineuses (graisseuses). Il est fixé par

la liqueur de Bouin. Les coupes montrent que les deux pronucléus sont en réalité plus profonds que l'examen à l'état frais ne semble le montrer. Un corps énigmatique.

68) Un œuf id., fixé dans la liq. de Bouin. Il montre deux pronucléus excentriques, au pôle plastique. Dans le voisinage de ces pronucléus siège un corps énigmatique double. Les deux globules polaires existent au pôle deutoplasmique opposé.

XXIIIe Chatte. En rut le 6-IV-07. Accouplements à 6 heures et à 6 $^1/_4$ h. du soir. Sacrifiée le 9-IV-07, à 8 h. du matin, donc 2 jours 14 heures après le premier accouplement. Elle donne :

69) Un œuf dans le $^1/_3$ utérin de l'oviducte droit, fixé par le sublimé alc. acét. Cet œuf, coloré au carmin boracique, montrait deux pronucléus au pôle plastique et deux globules polaires. Il était bien coupé, mais en chauffant trop les coupes dans la paraffine, elles se sont désagrégées.

70) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. Il est au stade des deux pronucléus périphériques au pôle plastique. Les deux globules polaires ne sont pas visibles.

71) Un œuf dans le $^1/_3$ utérin de l'oviducte gauche, fixé id. Se montre divisé à l'état frais. Il est divisé en deux blastomères : chacun renferme un noyau lobulé. Dans un des deux blastomères, existe un corps énigmatique.

XXIVe Chatte. Rut et accouplements le 11-IV-07 à 11 heures du matin et à 6 $^1/_4$ du soir. Sacrifiée le 14 à 10 heures, donc 3 jours moins 1 heure après le 1er accouplement. Elle donne :

72) Un œuf dans le $^1/_3$ moyen de l'oviducte droit, fixé par le sublimé alcoolique acétique. A l'état frais il se montre divisé en trois sphères de segmentation. Cet œuf est divisé en trois blastomères ; le vitellus plastique est concentré du côté des plans de segmentation ; le deutoplasme est périphérique.

73) Un œuf dans le $^1/_3$ utérin de l'oviducte gauche. A l'état frais il se montre nettement divisé en trois blastomères au moins. Cet œuf n'est pas très favorablement coupé et il est difficile de le reconstituer.

74) Un œuf ovarique au stade du 1er fuseau de maturation, fixé par la liqueur de Bouin. C'est un follicule qui ne va pas éclater, dont l'épithélium folliculaire renferme des capillaires sanguins et présente le même aspect que celui d'un corps jaune qui existe à côté. L'œuf renferme en outre les nombreux parasites que nous avons mentionnés pour la chatte XIII.

XXVe Chatte en chaleur le 15-II-07. Ce jour-là, il y a accouplement à 3 h. de l'après-midi. Le 16, encore un accouplement. Sacrifiée le 18-II-07, donc 3 jours après le 1er coït observé. L'ovaire gauche montre quatre corps jaunes, l'ovaire droit un corps jaune. Elle donne :

75) Un œuf dans le tiers utérin de l'oviducte, fixé par la liq. de Hermann. L'œuf est divisé en deux jolis blastomères, coupés à peu près parallèlement au plan de segmentation.

76) Un œuf id., fixé par la liq. de Hermann. Il est divisé en quatre blastomères.

77) Un œuf id., fixé par la liq. de Bouin. Se montre divisé à l'état frais. Il est nettement divisé en trois blastomères sur les coupes : un grand blastomère et deux petits. Le premier renferme un grand noyau au stade spirème, plus une sphère attractive ; les deux petits blastomères renferment un petit noyau. Corps énigmatique.

78) Un œuf id., fixé par le sublimé alcoolique acétique. Se montre nettement divisé à l'état frais. Cet œuf est divisé en quatre blastomères, coupés dans un sens peu favorable pour son étude. Il montre une deutoplasmolyse nette.

XXVIe Chatte manifestement en chaleur les 14, 15, 16 mai. Un premier accouplement se voit le 18 à 8 h. du soir. Sacrifiée le 20-V-07, donc un jour 2 $^1/_2$ h. après l'accouplement observé. Ovaire droit : plusieurs corps jaunes ; ovaire gauche : rien à voir. Elle donne :

79) Un œuf dans le $^1/_3$ utérin de l'oviducte, fixé par la liq. de Flemming. La série des coupes n'est pas complète, mais sur certaines coupes on compte 4 blastomères.

80) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. Cet œuf est segmenté en un plus grand nombre de blastomères que le pré-

cédent, sur une coupe on en compte six, mais les séries ne sont pas complètes.

XXVIIe Chatte sacrifiée le 30-III-07 ; la chatte n'a pas été bien observée au point de vue de l'accouplement et du rut. L'ovaire entier avec l'oviducte y attenant ont été fixés par le procédé de Benda. Dans l'oviducte, on trouve :

81) Un œuf divisé en deux blastomères.

XXVIIIe Chatte. Accouplement le 11 mars à 9 h. du matin. Le 12 mars, accouplement à 10 $^1/_2$ h. du matin et à 6 $^1/_4$ du soir. Le 13, plus rien à voir. Sacrifiée le 14-III-08 à 9 h. du matin. L'ovaire gauche montre trois follicules mûrs, l'ovaire droit deux follicules mûrs. Elle donne :

82) Un œuf ovarique au stade du second fuseau de maturation, fixé par le sublimé alcoolique acétique. Deux corps énigmatiques. Disque proligère caractéristique.

83) Un œuf id., fixé par le liq. de Hermann. Un corps énigmatique. Disque proligère caractéristique.

84) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. Globule polaire très petit. Deux corps énigmatiques. Disque proligère caractéristique.

85) Un œuf id., fixé par la liq. de Flemming. Un corps énigmatique. Disque proligère caractéristique.

86) Un œuf id., fixé par la liq. de Bouin. (Série incomplète).

XXIXe Chatte en chaleur et accouplée le 19-II-08 à 3 heures de l'après-midi. Plusieurs coïts le 20 février. Sacrifiée le 21 février à 4 heures, donc 2 jours et 4 heures après le 1er accouplement. L'ovaire gauche montre trois follicules rompus, l'ovaire droit deux follicules rompus et un ou deux follicules volumineux (non coupés). On trouve :

87) Un ovule dans le tiers utérin de l'oviducte gauche, fixé par la liqueur de Hermann. Deux pronucléus. Un corps énigmatique. Globules polaires. L'épithélium ovulaire adhère encore partiellement à l'œuf.

88) Un ovule, id. Deux pronucléus. Un corps énigmatique. Globules polaires. L'épithélium ovulaire adhère encore partiellement à l'œuf.

89) Un ovule id. Deux pronucléus. Beau corps énigmatique. Polarité nette. Quelques cellules de la zona coronata adhèrent encore à l'œuf et montrent un centrosome avec un ou deux corpuscules centraux (voir phot. 84 et 85).

90) Un ovule dans le tiers utérin de l'oviducte droit, fixé par la liq. de Hermann. Deux pronucléus. Polarité nette (phot. 83).

XXXe Chatte. Premier accouplement le 5-III-08 à 8 $^1/_2$ h. du matin. Le même jour, accouplements à 9 h. du matin et à 5 h. du soir. Le lendemain, accouplements à 9 h. du matin et à 6 h. du soir. Le 7, elle n'est plus en chaleur. Sacrifiée le 7-III-08 à 4 heures.

L'ovaire gauche montre trois corps jaunes récents. Elle donne :

91, 92) Deux ovules dans le tiers utérin de l'oviducte, fixés par le Benda.

Deux pronucléus. Graisse abondante. (Série incomplète).

93) Un ovule id., fixé par la liq. de Hermann.

XXXIe Chatte. Accouplement à 6 h. du soir le jeudi 19-III-08; le vendredi, trois accouplements; le samedi, accouplement à 6 $^1/_2$ h. Sacrifiée le 22-III-08 à 10 h. du matin. L'ovaire gauche montre un corps jaune; l'ovule exprimé du $^1/_3$ utérin de l'oviducte correspondant a été perdu. L'ovaire droit montre trois corps jaunes récents. On trouve :

94) Un ovule dans l'oviducte, fixé par le sublimé alcoolique acétique et la liqueur de Zenker, parties égales. Deux jolis corps énigmatiques. Deux pronucléus. Deux globules polaires.

95) Un ovule id. Un corps énigmatique. Deux pronucléus. Deux globules polaires. Une queue de spermatozoïde près du pronucléus mâle.

96) Un ovule id. Un corps énigmatique. Deux globules polaires. Trois pronucléus (entrée de deux spermatozoïdes).

XXXIIe Chatte. Accouplement le 4-IV-08 à 9 h. du matin et à 5 h. du soir. Le 5, accouplement à 10 h. Le lendemain, la chatte est encore en chaleur, mais on ne voit plus d'accouplement. Sacrifiée le 7-IV-08 à 4 heures. Ovaire gauche : pas de

follicules rompus ; ovaire droit : quatre corps jaunes récents. On trouve :

97) Un ovule dans l'oviducte droit, fixé par la liqueur de Flemming. Deux pronucléus. Graisse peu abondante. Deux globules polaires.

98) Un ovule id. Deux pronucléus. Graisse peu abondante. Polarité nette. Deux globules polaires près du pôle deutoplasmique. (Série incomplète).

99) Un ovule id. Deux pronucléus. (Série incomplète.)

XXXIIIe Chatte, peu observée. Accouplement le 5 février à 5 h. de l'après-midi. Le 7 février, elle ne paraît plus en chaleur. Sacrifiée le 7-II-08 à 9 h. du matin. L'ovaire gauche montre deux follicules rompus largement ouverts. Ovaire droit : rien à voir. Elle donne :

100) Un œuf, avancé dans sa segmentation (20 blastomères environ).

XXXIVe Chatte. Trois accouplements le mardi 17-III-08 à midi. Trois accouplements le mardi soir. Plusieurs accouplements le mercredi. Rien à voir le jeudi. Le vendredi à 9 $^1/_4$ h. du matin et à 6 h. du soir, accouplements manifestes. Sacrifiée le samedi 21-III-08 à 4 h. de l'après-midi. L'ovaire droit, ainsi que l'ovaire gauche, montrent deux corps jaunes très exubérants. On trouve :

101) Un œuf dans le tiers utérin de l'oviducte droit, segmenté en une douzaine de blastomères. Fixation par la liqueur de Flemming.

Le second ovule de l'ovaire droit a été perdu.

102) Un œuf dans le $^1/_3$ utérin de l'oviducte gauche, fixé par la liq. de Perennyi, segmenté en 14 blastomères environ. Deux corps énigmatiques.

103) Un œuf id. segmenté en une douzaine de blastomères. Corps énigmatiques.

XXXVe Chatte en chaleur du lundi 3 au mercredi 5 février. Tuée le vendredi 7-II-08. Ovaire droit : deux jolis follicules rompus. Ovaire gauche : rien à voir comme follicule rompu. On trouve :

104, 105) Deux ovules dans le tiers utérin de l'oviducte

droit, fixés par la liq. de HERMANN, en segmentation avancée (environ 28 à 30 blastomères).

XXXVIe Chatte, soupçonnée en chaleur le samedi 14-III-08; pas observée le dimanche; en pleine chaleur le lundi; accouplement manifeste le soir à 6 heures. Le mardi plus rien à voir. Sacrifiée le 18-III-08. On trouve :

106) Un œuf dans l'oviducte gauche, fixé par le procédé de BENDA, segmenté en deux blastomères. Graisse très abondante.

107) Un œuf dans l'oviducte droit, fixé par la liq. de ZENKER, segmenté en deux blastomères (quelques coupes manquent).

108) Un œuf id., probablement segmenté en trois blastomères. (Série incomplète.)

XXXVIIe Chatte. Le mardi 31-III-08, deux accouplements à 6 h. du soir; le mercredi à 10 h., deux accouplements. Sacrifiée le vendredi 3-IV-08. Ovaire droit : quatre follicules rompus. Ovaire gauche : rien à voir. On trouve :

109, 110, 111, 112. Quatre ovules segmentés, situés à $^1/_2$ cm. de l'orifice utérin de l'oviducte, et fixés par le sublimé alcoolique acétique. Ils sont divisés en sept ou huit blastomères.

Le tableau ci-dessus qui, à première vue, doit paraître beaucoup trop long pour une simple énumération d'œufs et que nous n'ajoutons à notre mémoire qu'à titre de document, peut présenter un intérêt relativement grand pour l'embryologiste qui désire reprendre l'étude de la maturation, de la fécondation et de la segmentation de l'œuf de chatte. Chose curieuse, personne jusqu'ici n'a essayé de faire cette étude, hérissée de difficultés, car il n'est pas facile d'élever et de surveiller aussi soigneusement des chattes en captivité.

De plus nous avons méticuleusement marqué, pour la plupart des femelles, le début de la période du rut, la date des accouplements et en regard, on trouve le stade d'évolution intra- ou extraovarique des œufs.

Si on fait abstraction de plusieurs détails de structure, concernant la polarité de l'œuf à la période de maturation, de fécondation et de segmentation, concernant la présence de corps énigmatiques constants et la quantité de graisse variable

pour un stade donné de l'évolution ovulaire, non seulement d'après les femelles, mais même d'après les œufs d'une même chatte, ce tableau nous permet de tirer les conclusions suivantes:

1°) La période de chaleur, retardée, pour les chattes en captivité, de plusieurs semaines, dure généralement de deux à trois jours.

2°) Il est difficile de déterminer exactement le stade de développement auquel sont arrivés les œufs à un moment donné du rut. En général on peut dire :

a) Au début de la chaleur (le 1er jour), l'œuf intraovarique est arrivé au dernier stade de l'accroissement et possède une vésicule germinative à siège périphérique.

b) Vers le second jour (au début ou à la fin), l'œuf est au stade du 1er ou du 2e fuseau intraovarique. Cette période de maturation ovulaire est très rapide et évolue en quelques heures.

c) La rupture du follicule ovarique se produit vers cette époque, dans le courant de la seconde journée et à ce moment l'œuf, de même que celui de Chauve-Souris (O. Vander Stricht), est au stade du second fuseau de maturation.

d) L'expulsion du premier globule polaire se produit à l'intérieur du follicule de De Graaf, celle du second quand l'œuf est arrivé dans l'oviducte.

e) Au moment de la chute de l'ovule, l'épithélium ovulaire (du disque proligère) l'entoure encore. Il persiste jusqu'à une période variable ; on le trouve parfois encore autour de l'œuf au début de la segmentation.

Ce fait s'explique par la présence des prolongements cellulaires de l'épithélium ovulaire, qui traversent manifestement la zone pellucide pour atteindre l'espace périvitellin, séparant la membrane vitelline de cette dernière enveloppe, pour s'y terminer par un petit renflement

f) La période de la fécondation ovulaire coïncide à peu près avec la fin de la période de chaleur (fin du 2e ou 3e jour).

g) Après la période de chaleur, on trouve l'œuf généralement en segmentation.

Ces données ne sont point rigoureuses ; le tableau ci-dessus montre qu'il y a beaucoup d'exceptions à cette règle, mais il nous est impossible d'en donner de plus précises. Elles constituent cependant des renseignements précieux pour celui qui désire recueillir des œufs de chatte.

3°) Les œufs d'une même mère sont tous à peu près au même stade du développement, mais il y a des exceptions à cette règle. Voyez chattes XX, XXII, XXV, etc.

4°) L'accouplement est nécessaire pour amener la rupture folliculaire; il n'y a jamais d'ovulation spontanée. Cette opinion est basée sur un grand nombre d'observations et concorde avec celle de von Winiwarter et Sainmont (63, page 128).

5°) L'ovulation peut être unilatérale (voir chattes XXVI, XXXIII, XXXV, XXXVII) ; toutefois le plus souvent les œufs sont produits par les deux ovaires.

6°) La rupture des follicules de De Graaf s'opère à peu près simultanément pour tous les œufs d'une même femelle. Nous sommes porté à croire qu'il y a des exceptions à cette règle, et que dans ces cas les œufs d'une même mère ne sont pas au même stade de développement.

7° Les follicules volumineux non rompus représentent ou bien des follicules volumineux atrésiques ou bien des follicules parfaits normaux (?), dont l'épithélium semble subir des modifications semblables à celles d'un follicule rompu.

De pareils follicules ont été décrits par von Winiwarter et Sainmont (63, p. 122) ; il résulte de leurs observations et nous les confirmons : " que des follicules en apparence mûrs peuvent, au lieu de s'atrésier suivant le mode habituel, se transformer en corps jaunes, tout au moins partiellement et sans rupture préalable. „

Voir le tableau : chattes IV, XVI, XXIV.

Après fixation par la liq. de Bouin ou par le sublimé alcoolique acétique, on met en évidence d'une façon nette dans toutes les cellules à lutéine le centrosome, contenant un ou deux corpuscules centraux, dont von Winiwarter et Sainmont n'ont point aperçu l'existence.

8°) L'œuf de chatte, qui vient de quitter l'ovaire, passe très rapidement à travers le premier segment de l'oviducte. Il est très rare d'y retrouver un ovule. Généralement il arrive rapidement dans le tiers utérin de cet organe, à l'intérieur duquel on aperçoit souvent des ovules au début de la fécondation. Toutefois on peut observer des œufs au stade de la segmentation (par ex. l'œuf 72) à l'intérieur du tiers moyen de l'oviducte.

Les 112 œufs étudiés, appartenant pour la plupart à la période du rut, se répartissent de la manière suivante :

Fin du stade d'accroissement = 25.

Période de maturation	1er fuseau intraovarique	= 7
	2e id. id.	= 14
	2e id. extraovarique	= 2
Période de fécondation	au début	= 15
	fécondation avancée	= 21
Segmentation	en 2 blastomères	= 6
	en 3 id.	= 4
	en 4 id.	= 2
	en plusieurs id.	= 12

CHAPITRE I.

Modifications nucléaires de l'ovule intéressant toute la période d'accroissement.

Les rapports qui existent entre l'état de développement de la vésicule germinative et les modifications vitellines étant très étroits, nous avons cru nécessaire, pour faciliter la description et la compréhension de nos observations, de faire une étude tres succincte des étapes successives par lesquelles passe le noyau de l'oocyte de premier ordre.

Cela étant, nous pourrons rapporter à des types nucléaires connus, certaines modifications vitellines, l'existence de certains éléments cytoplasmiques, leur apparition, leurs transformations, etc.. De cette façon l'exposé gagnera en clarté et en netteté.

Nous commencerons, avant d'aborder cette étude, par donner un aperçu très sommaire de la constitution de l'ovaire à des âges différents, en fixant surtout l'attention sur le moment d'apparition et de disparition des différents types nucléaires et d'apparition et d'évolution des follicules.

Les formes nucléaires, appartenant aux stades initiaux de la période de croissance, se rapprochant beaucoup de celles décrites par von Winiwarter (59) dans l'ovule de lapine, nous croyons pouvoir nous servir avantageusement de la série des dénominations employées par cet auteur. Nous parlerons donc de noyaux protobroques, deutobroques, leptotènes, synaptènes, pachytènes, diplotènes, dictyés.

Comme Henneguy (17) et Mertens (29) l'ont observé, l'ovaire de jeune chatte renferme des ovules représentant les stades les plus jeunes de leur croissance. Sa structure intime rappelle assez fidèlement celle de l'ovaire de lapine dans les premiers jours qui suivent la naissance. L'ovaire de nouveau-né, tapissé par une rangée de cellules indifférentes à noyau protobroque (épithélium germinatif), est constitué par un grand nombre de cordons cellulaires, dont les superficiels renferment, les uns,

des oogonies à noyau protobroque, d'autres des oocytes à noyau deutobroque à côté d'oogonies ; les profonds montrent des oocytes plus différenciés à noyaux leptotènes, synaptènes, pachytènes et même diplotènes.

Toutes les formes nucléaires des stades initiaux de la période de croissance existent donc dans l'ovaire dès les premiers jours qui suivent la naissance. Un fait également important, c'est que nous les retrouvons dans les ovaires plus âgés, jusqu'à l'âge de trois à quatre semaines. Le degré de différenciation est cependant très variable, les noyaux protobroques et deutobroques prédominant dans les plus jeunes, et les noyaux synaptènes et pachytènes dans les ovaires plus âgés.

A côté de ces formes nucléaires, on trouve toujours dans la couche corticale toute superficielle des figures mitosiques d'oogonies en voie de division. Les ovules à noyau géant et les oogonies en karyolyse, décrits chez la lapine, existent également dans l'ovaire de chatte.

Ces premiers types nucléaires semblent disparaître complètement dans les ovaires de cinq semaines ; ceux-ci renferment presque exclusivement des ovules à noyaux diplotènes et dictyés. Les ovules de la couche corticale ne sont pas encore entourés de cellules folliculaires, tandis que dans la profondeur ils forment déjà de véritables follicules primordiaux, entourés d'une rangée de cellules aplaties ou cubiques, et quelques uns même d'un épithélium de deux à quatre rangées. Dans les derniers oocytes apparaissent les premières boules graisseuses.

Les noyaux diplotènes persistent dans l'ovaire durant toute son évolution ultérieure, en subissant de légères modifications : ils forment la majorité des noyaux des petits ovules de la couche corticale de l'ovaire adulte.

Dans l'ovaire de deux mois environ, les follicules primordiaux profonds ont grandi : l'épithélium folliculaire stratifié se différencie en une zone interne, le futur disque proligère et une zone externe ou épithélium folliculaire proprement dit, les deux zones étant séparées par des sillons ou lacunes, qui représentent l'ébauche de l'antrum folliculaire.

A un âge un peu plus avancé, des folliculles à petit antrum existent déjà.

A partir de quatre mois, l'organe présente la structure et l'aspect d'un ovaire adulte; la couche corticale parenchymateuse est constituée par une zone superficielle d'ovules, entourés d'une rangée de cellules folliculaires aplaties et renfermant pour la plupart un noyau diplotène et par une zone plus profonde contenant des follicules primaires et de véritables follicules de De Graaf à antrum plus ou moins étendu, évoluant lentement, mais dont la plupart subissent l'atrésie. Sainmont (36) a fourni au sujet de ces éléments des données très précises que nous n'avons pas l'intention de discuter dans ce mémoire.

Dans ces derniers, le noyau dictyé se transforme et aboutit à la fin de la période d'accroissement à la formation de boules chromatiques ou chromosomes arrondis.

Nos recherches concernant les modifications nucléaires, ainsi que celles concernant la vitellogenèse proprement dite, ont été mentionnées succinctement dans une note, qui a paru en 1908 dans les *annales de la Société de médecine de Gand.*

Dans un récent travail sur l'ovogenèse et l'organogenèse (1909), von Winiwarter et Sainmont (63) viennent d'étudier à leur tour les transformations nucléaires dans l'oocyte de chatte. Comme ces auteurs le font remarquer, leurs observations sont sensiblement analogues aux nôtres. Nous ne contestons pas l'existence des noyaux poussiéroïdes et transitoires, qui constituent des formes intermédiaires entre les véritables noyaux protobroques et les noyaux deutobroques bien constitués, mais qui n'ont pas été étudiés dans le présent mémoire parce qu'ils ne présentent aucun intérêt au point de vue de la vitellogenèse.

Remarquons que leur étude du noyau s'arrête au stade dictyé, et que seul nous avons poursuivi son évolution jusqu'à la fin de la période de croissance, c'est-à-dire jusqu'au moment de la formation du 1er fuseau.

Après ces préliminaires, nous abordons la description des diverses transformations nucléaires de la période de croissance ovulaire, en laissant de côté les noyaux protobroques des oogonies, qui, répétons-le, présentent peu d'intérêt au point de vue de

la vitellogenèse, et en commençant notre description au moment où l'oocyte de premier ordre est manifestement constitué.

I. *Noyau deutobroque.* (fig. 1, 2, 3, 4. Pl. XIV).

Le noyau deutobroque est arrondi et renferme un nucléole sphérique central ou légèrement excentrique, se colorant fortement par la safranine et l'hématoxyline.

La chromatine se montre sous forme de petits grains, accolés à la membrane nucléaire et reliés à des grains identiques périnucléolaires par des filaments achromatiques simples ou bifurqués et pouvant s'anastomoser entre eux. Ces derniers sont eux-mêmes parsemés de granulations serrées et agençées de façon à former des lignes continues et à donner un aspect filamenteux rayonnant.

La charpente filaire montre dans ces noyaux une véritable disposition plus ou moins radiaire par rapport au nucléole ; elle est d'autant plus nette qu'on se rapproche plus du type deutobroque achevé.

Ce noyau occupe par rapport au vitellus, qui est très peu abondant, une position assez constante ; sans être tout-à-fait périphérique, il tend à se rapprocher de la surface de la cellule, de sorte qu'à un pôle on trouve une petite masse cytoplasmique plus abondante, où apparaît le corps vitellin.

Cette description correspond à celle des noyaux *b* de D'Hollander (61) pour les jeunes oocytes d'ovaire d'oiseaux, mais chez ces derniers le nucléole est plasmatique.

Von Winiwarter (59), dans l'ovule de lapin, ne trouve pas d'orientation du caryomitome par rapport au nucléole ; il est nettement réticulé, et il existe, outre le nucléole, des amas chromatiques irréguliers volumineux.

II. *Noyaux leptotènes ou à spirème fin.* (fig. 5, *b*. Pl. XIV).

Dans le noyau leptotène, plus volumineux que le noyau deutobroque, on se trouve en présence d'un système de filaments minces, enchevêtrés ; ils sont souvent, dès le début de leur for-

mation, plus serrés autour du nucléole ou en un point quelconque de l'aire nucléaire, tout en la remplissant complètement.

Le nucléole, constant chez la chatte, n'a pas été décrit par von Winiwarter dans l'ovule de lapine.

III *Noyaux synaptènes.*

A un premier stade, la condensation des filaments s'accentue et s'opère au pôle nucléaire en rapport avec le corps vitellin ; il en résulte une masse compacte, nettement filamenteuse, renfermant le nucléole, et un segment nucléaire plus clair, plus dégagé, où les filaments moins serrés s'accolent à la membrane nucléaire (fig. 5, *a*).

Au stade suivant, le retrait augmente, les filaments s'épaississent (fig. 6). Du grumeau partent des cordons tantôt simples, tantôt doubles et parallèles, tantôt bifurqués à leur extrémité en présentant sur leur trajet de petits losanges. On les poursuit juqu'à la membrane nucléaire du côté opposé à celui où siège la chromatine retractée.

Le grumeau ne se présente pas sous l'aspect d'une masse homogène ; on y découvre facilement les cordons chromatiques, qui déjà s'orientent et prennent en partie la disposition qui est caractéristique pour le stade suivant.

La fig. 7 montre plusieurs cordons se dirigeant parallèlement vers la partie de la membrane nucléaire qui est en rapport avec le croissant vitellogène.

Dans le synapsis complet (fig. 8) les filaments du grumeau restent nettement visibles ; ils présentent la forme d'anses, à peu près d'égale grandeur ; ils sontparallèles entre eux et fortement serrés les uns contre les autres. Leur convexité est tournée vers le pôle nucléaire rempli d'un suc clair, et leurs extrémités libres vers le croissant vitellogène.

Dans la fig. 9, les anses parallèles du synapsis ont été coupées transversalement vers leurs extrémités libres, le segment nucléaire clair étant en dehors de la coupe ; la section des cordons engendre de cette manière un champ sombre, formé de petites boules chromatiques occupant à peu près toute l'aire nucléaire.

Pendant toute l'évolution du synapsis, le nucléole reste nettement visible et existe souvent à la périphérie du grumeau.

Cette description se rapproche beaucoup de celle, faite par von Winiwarter pour les noyaux synaptènes de l'ovule de lapine ; toutefois chez la chatte, l'orientation des cordons et des anses est plus manifeste et le nucléole, qui fait défaut chez la lapine, est évident. Comme nous, cet auteur décrit, au début du synapsis, les filaments parallèles et ouverts sur leur trajet ; à ce sujet, il émet l'hypothèse suivante : " la dualité des filaments chromatiques dans les noyaux synaptènes provient d'un rapprochement de cordons primitivement distincts. Ce rapprochement est suivi d'un accolement. De l'union des deux filaments résulte le cordon épais des noyaux pachytènes ".

Von Winiwarter et Sainmont (63) viennent de confirmer chez la chatte cette fusion des filaments parallèles au début du synapsis.

Au cours de nos recherches, et quoique que nous ayons porté notre attention plus d'une fois sur ce point, nous ne sommes pas parvenu à élucider cette question si intéressante. Il est certain qu'on observe au début du synapsis de nombreux filaments parallèles.

Le fait d'observer ce parallélisme ne permet pas de conclure à une véritable fusion de ces éléments. Quand on examine attentivement les noyaux leptotènes et synaptènes et toutes les formes transitoires, il semble plutôt qu'on assiste à un épaississement graduel du filament chromatique du noyau leptotène, de sorte que les arceaux épais du synapsis achevé seraient plutôt le résultat d'un raccourcissement du spirème fin.

IV. *Noyaux pachytènes ou à spirème épais.*

Les figures 10, 11, 12, pl. XIV représentent différents stades de transition entre les noyaux synaptènes et pachytènes : les arceaux épais du synapsis sont déployés, plus apparents, mais ne remplissent pas entièrement la cavité nucléaire ; en s'allongeant de plus en plus, ils finissent par en occuper toute l'étendue (fig. 15, pl. XIV).

La disposition parallèle des anses, à extrémités libres tournées vers le croissant vitellogène, persiste pendant toutes ces étapes.

La fig. 16, les représente en section transversale ; elle en démontre clairement le parallélisme ; les anses se dessinent sous forme de boules chromatiques, arrondies, disposées deux par deux, chaque paire de grains appartenant à une anse.

A un stade plus avancé (fig. 17, 18, pl. XIV) le spirème perd son orientation ; les branches des anses finissent par s'enlacer irrégulièrement.

Les cordons pachytènes montrent une structure moniliforme.

Dans l'ovule de lapine, le nucléole, absent dans les noyaux leptotènes et synaptènes, réapparaît à ce moment ; chez la chatte il persiste toujours.

Cette persistance du nucléole de la vésicule germinative de l'oocyte de chatte a été signalée par von Ebner (60), qui décrit d'ailleurs les stades principaux de l'évolution du noyau, d'après des préparations de H. Rabl, à peu près de la même manière que nous venons de le faire.

Dans les oocytes à noyaux poussiéroïdes, transitoires, synaptènes, pachytènes, von Winiwarter et Sainmont (63) signalent à côté du nucléole vrai " un autre élément bleu foncé, généralement plus volumineux et plus allongé „. Cet élément existe, mais pas d'une façon constante.

V. *Noyaux diplotènes.*

Dans les noyaux diplotènes, les filaments du spirème épais subissent le fendillement longitudinal ; celui-ci se limitant souvent à une étendue assez restreinte des segments nucléiniens, il se produit sur leur trajet des petits anneaux ou des losanges. Un fendillement plus complet engendre des filaments doubles.

Dans les ovaires jeunes, où ils apparaissent surtout vers l'âge de trois à quatres semaines, les anneaux au début de leur formation sont extrêmement petits et les filaments doubles sont très minces et à contours irréguliers (fig. 20, pl, XIV).

On les aperçoit surtout vers la périphérie de l'aire nucléaire

et sur les coupes tangentielles à la surface de la vésicule germinative.

A ce moment, la cellule n'est pas encore entourée de cellules folliculaires proprement dites. Dans les follicules primordiaux entourés d'une rangée de cellules plates ou cubiques, les deux branches des anneaux s'écartent, leur diamètre augmente et les cordons sont plus épais et souvent moniliformes (fig. 23).

Les noyaux diplotènes se retrouvent également dans les ovaires adultes, où ils constituent le caryomitome de la vésicule germinative d'un grand nombre d'oocytes de la couche corticale.

Les segments chromatiques se montrent sous des aspects variables, tantôt sous forme de grands anneaux et de huit de chiffre bien nets, tantôt sous forme de petits anneaux épais et rétrécis, tantôt sous forme de chaînettes de petits losanges (phot. 46, 49, pl. XVI).

Le nucléole, constant et unique, peut occuper dans le sac nucléaire une position variable. L'ovule de lapine contient toujours de multiples nucléoles de volume inégal.

Ces chromosomes doubles et ces anneaux chromatiques ont été signalés dans la vésicule germinative des oocytes de femme, par O. Vander Stricht (52).

D'après von Winiwarter, le fendillement longitudinal, observé dans les noyaux diplotènes, correspond à un écartement des filaments doubles, accolés dans les noyaux synaptènes.

Dans tous les stades précités, le siège de la vésicule germinative dans la masse cytoplasmique qui augmente à mesure que l'oocyte évolue, est toujours excentrique ; la position est toutefois variable : tantôt il est très rapproché, tantôt il se trouve à une distance plus ou moins grande de la surface du vitellus.

VI. *Noyaux dictyés* (fig. 24, 25, pl. XIV et phot. 58, 59, pl. XVI).

Les noyaux dictyés appartiennent aux follicules primordiaux.

Les anneaux des noyaux diplotènes ont une tendance à se fermer et donnent naissance à la formation d'amas chromatiques à contours irréguliers, au début compacts, plus tard grumeleux, tantôt pleins, tantôt renfermant une petite lumière centrale.

Les cordons doubles prennent un aspect irrégulier ou déchiqueté analogue. De nombreux filaments grêles, granuleux, relient les agglomérations chromatiques entre elles et aux filaments doubles; le noyau acquiert un aspect réticulé.

A ce stade de l'accroissement, on retrouve presque toujours des restes de la structure diplotène, soit sous forme d'anneaux ou de huit de chiffre bien nets, soit sous forme de filaments doubles, se différenciant toutefois nettement de ceux des noyaux diplotènes par leur aspect irrégulier ou dissocié et grumeleux (fig. 24, 25, pl. XIV).

Au milieu de tous ces éléments chromatiques existe un nucléole nucléinien assez volumineux et bien arrondi.

La structure dictyée, considérée dans son ensemble, est assez variable, suivant que l'oocyte, entouré d'une rangée de cellules ou d'un épithélium folliculaire stratifié, appartient à un ovaire jeune ou adulte. Ces ovules, enveloppés par plusieurs assises cellulaires, se caractérisent par l'abondance de leur chromatine et par une dissociation grumeleuse plus avancée (fig. 24, 25).

Le siège et le volume de la vésicule germinative sont également très variables. Dans les follicules très jeunes, notamment des ovaires adultes, le noyau, toujours arrondi, n'est guère plus grand que celui du stade précédent (diplotène) et son siège est excentrique.

Dans les follicules à plusieurs rangées cellulaires, il acquiert un volume énorme, en même temps qu'il s'éloigne de la périphérie du vitellus et occupe finalement une position centrale manifeste (fig. 30, 31, pl. XIV). Nos figures démontrent clairement tous ces détails, se rapportant à la grandeur, au siège et à la structure du noyau.

Un dernier fait à signaler et très apparent sur nos dessins, c'est que l'augmentation du volume de l'ovule et par conséquent l'augmentation du vitellus est très notable à partir du moment où l'épithélium folliculaire aplati se transforme en un épithélium cubique ou stratifié ; c'est ainsi que les follicules à deux rangées cellulaires (fig. 58, 59, pl. XVI) acquièrent parfois un volume triple ou quadruple de celui des follicules à épithélium simple aplati.

Les noyaux dictyés peuvent persister longtemps et se retrouver dans les follicules de De Graaf parfaits.

Von Winiwarter et Sainmont (63) prétendent que le noyau dictyé est toujours une forme de dégénérescence, et non un stade normal.

Les considérations qui suivent, sur l'évolution ultérieure du noyau, prouveront suffisamment qu'il n'en est pas toujours ainsi.

VII. *Évolution ultérieure du noyau jusqu'à la fin du stade d'accroissement.*

L'évolution ultérieure de la vésicule germinative est très simple; ayant uniquement pour but de condenser la chromatine et de la réduire sous le plus petit volume, elle peut être décrite brièvement de la façon suivante. A un premier stade, les agglomérations chromatiques grandes ou petites, avec les prolongements granuleux qui en partent, se condensent en amas plus compacts, ainsi que les cordons dissociés, qui forment des filaments épais, plus réguliers; les anneaux simples ou à branches enlacées sous forme de huit de chiffre, perdent également leur aspect granuleux et grumeleux et se condensent en anneaux plus petits, compacts et à contours réguliers, tels qu'on en trouve à des stades plus jeunes. La structure réticulée a disparu et tous ces éléments chromatiques siègent isolément dans le suc nucléaire (fig. 26, 32, pl. XIV).

A un second stade, les amas chromatiques et les cordons s'arrondissent, les anneaux se ferment ; il en résulte la formation de boules chromatiques ou chromosomes arrondis.

En même temps que s'opèrent toutes ces transformations, la vésicule germinative centrale se déplace et gagne la périphérie du vitellus ; dans les ovules arrivés à la fin de la période d'accroissement, elle est tout-à-fait périphérique et souvent accolée contre la membrane vitelline (fig. 34, 35, 64, 65, 70, 71. Pl. XIV et XVII). Au début arrondie ou ovalaire, elle devient plus irrégulière.

Avant d'engendrer le premier fuseau de maturation, les contours du noyau sont souvent irréguliers ; ils montrent des

lobes irréguliers et multiples à la surface de la vésicule germinative ; d'autres fois on aperçoit plusieurs incisures ou entailles plus ou moins profondes, qui engendrent un aspect lobé du noyau (fig. 34, 70, 71). Ces contours irréguliers sont probablement dus en partie à un retrait artificiel de la membrane nucléaire, mais ils existent là où aucune rétraction n'est visible. Les réactifs accentuent donc souvent des lobes dont la présence est indéniable.

Le moment de la formation des boules chromatiques est très variable, et peut être plus ou moins précoce ; ainsi la fig. 62 (Pl. XVII) représente un ovule d'un follicule de De Graaf à vésicule germinative encore centrale et qui renferme déjà des amas chromatiques plus ou moins arrondis. D'autres fois les boules chromatiques ne sont pas totalement constituées, alors que la vésicule germinative est toute périphérique.

Le nucléole ne se différencie guère au milieu de ces chromosomes.

Dans un ovaire de chatte, fixé au procédé de Benda, avant la période du rut, on constate la présence de plusieurs follicules de De Graaf parfaits, à antrum très étendu et dont toutes les parties constituantes dénotent un état bien normal, car il n'existe nulle part trace de chromatolyse à la surface de l'épithélium folliculaire. La vésicule germinative siège vers la surface du vitellus. Elle renferme un ou plusieurs nucléoles volumineux, nucléiniens, et sur les deux coupes généralement extrêmes, la première et la dernière, du noyau, c'est-à-dire sur des coupes tangentielles à la membrane, on aperçoit un ou deux anneaux très étirés à branches enlacées sous forme de huit de chiffre. Sur les autres sections, transversales par rapport à l'aire nucléaire, on aperçoit, accolés contre la membrane, des tronçons ou des filaments épais, parfois doubles, qui représentent des anneaux identiques vus de profil.

Dans d'autres follicules normaux, moyens, dont l'antrum est bien développé, on aperçoit dans la vésicule encore centrale des images identiques.

Enfin dans les follicules de la période du rut, dont l'oocyte est arrivé à la fin du stade d'accroissement, on peut apercevoir

parfois des anneaux raccourcis et épaissis, qui sont sur le point d'engendrer des amas ou des boules chromatiques, représentant les ébauches des tronçons nucléiniens du premier fuseau de maturation.

Il résulte de là que, dans les œuf normaux, vers la fin de la période de l'accroissement, les anneaux chromatiques siègent toujours à la périphérie de l'aire nucléaire et sont accolés contre la membrane très mince. Les boules chromatiques qu'ils engendrent occupent le même niveau, jusqu'au moment de l'apparition du premier fuseau (fig. 34, 64).

Von Winiwarter dit qu'après le stade dictyé le noyau reprend sa structure réticulée. Nous-même avons employé ce terme. Mais, comme nous venons de le voir, les anneaux persistent dans la vésicule germinative, soit sous forme d'anneaux plus ou moins retractés, soit sous forme d'anneaux transformés en boules ou amas pleins.

Cette structure réticulée présente donc une signification toute différente de celle qu'on retrouve dans un noyau au repos. On pourrait la désigner sous le nom de " structure pseudo-réticulée „.

A première vue, la nucléine est disposée sous forme d'un réseau, mais ce réticulum est formé de trabécules reliant de véritables anneaux ou bien des anneaux transformés, qui à la fin de la phase d'accroissement engendrent chacun une boule ou un véritable segment chromatique. La démonstration de ce fait n'a jamais été faite pour l'œuf des mammifères.

L'étude des transformations nucléaires de l'œuf de la chatte nous permet donc de compléter celle faite par von Winiwarter (59), qui n'a pu poursuivre le sort des anneaux du stade diplotène durant une période très longue de la phase de l'accroissement. Grâce à des préparations irréprochables de follicules de De Graaf à différents stades de leur évolution, nous avons pu démontrer qu'il n'existe jamais un véritable stade de réticulum (après le stade dictyé) et que les anneaux persistent toujours et engendrent les segments chromatiques du premier fuseau.

CHAPITRE II.

Etude du corps vitellin.

A. Bibliographie du corps vitellin proprement dit dans l'œuf des mammifères.

En faisant abstraction des détails de structure du corps vitellin, et en ne tenant compte que des travaux où cet élément est signalé dans les œufs des mammifères, nous avons à citer une série nombreuse d'auteurs.

Frey (13) en 1871 le représente dans un œuf de femme, d'après un dessin original de Balbiani.

Ranvier (33) en 1875 le figure dans un ovule de souris et Balbiani (4) en 1879 le décrit dans l'œuf de la chienne, de la chatte, de l'écureuil et de la femme.

Ed. Van Beneden (48) en 1880 le trouve dans deux œufs de V. Mystacinus, et au sein du vitellus du grand Fer-à-cheval. Schütz (39) en 1882 le signale chez le rat, le lapin et le chat. En 1883, Rein (34) l'observe chez la lapine au stade de la maturation de l'œuf et dans un ovule mûr ; il le considère comme l'ébauche du pronucléus femelle. En 1893 Henneguy (17) signale le corps vitellin dans le vitellus de rat, de cobaye, de pipistrelle, de la femme, de mouton, de chatte et de lapine. La même année Mertens (29) le figure chez le rat et l'enfant nouveau-né. Janosik (22) décrit cet élément dans l'œuf de plusieurs jeunes mammifères.

En 1898, H. Rabl (31) observe le corps vitellin dans l'œuf de la chatte ; la même année, O. Vander Stricht (51) le représente dans celui de la femme. Stœckel (43) en 1898, H. Rabl (32) en 1899 et H. von Winiwarter (59) en 1900 le décrivent aussi dans l'ovule humain.

A cette série déjà longue d'auteurs on peut ajouter encore Gurwitsch (15), A. Spüler (42) en 1900 (cobaye), London (28)

en 1900 (cobaye), Honoré (20) en 1900 (lapine), Schoenfeld (38) en 1901 (vache et chatte), H. von Winiwarter (61) en 1902 (lapine), O. Vander Stricht (50) en 1902 (chauve-souris), R. V. Skrobansky (40) en 1903 (cobaye), O. Vander Stricht (52) en 1904 (chauve-souris et femme), et en 1905 (cobaye et femme) (53), enfin H. Lams et J. Doorme en 1907 (œuf de cobaye) (26).

A part quelques rares auteurs, signalant l'existence de deux corps de Balbiani, la division proprement dite de cet élément n'est décrite que par O. Vander Stricht (51, 52, 53,) dans le vitellus de l'œuf de la femme et de chauve-souris (V. noctula), et par H. Lams et Doorme à l'intérieur de l'oocyte de cobaye.

B. Corps vitellin proprement dit dans l'ovule de chatte.

Le corps vitellin proprement dit existe dans les oocytes de premier ordre, au stade le plus jeune, oocytes provenant de la dernière division d'une oogonie et renfermant un noyau deutobroque. Appliqué contre la vésicule germinative, il représente une petite vésicule homogène ou centrosome, très colorable par l'hématoxyline ferrique, renfermant un ou deux petits corpuscules centraux restant colorés en bleu après décoloration de la zone enveloppante (fig. 1, 2, 3, 4).

La vésicule germinative, occupant par rapport au vitellus une position excentrique, siège dans le voisinage immédiat du pôle nucléaire, en contact avec la plus grande quantité de cytoplasme, et se trouve au milieu d'une mince bande protoplasmique plus foncée, l'ébauche de la couche vitellogène, coiffant le noyau et se colorant en rose par le chromotrope.

Le vitellus peu abondant renferme quelques grains fortement colorables par l'hématoxyline et par la safranine (g), qu'il ne faut pas confondre avec le corpuscule central du corps vitellin. Le petit corpuscule colorable, décrit par Henneguy dans l'ovule de chatte nouveau-né, à côté de la vésicule germinative, n'est autre chose qu'une de ces granulations et ne représente nullement une sphère attractive.

Le centrosome se retrouve difficilement dans les oocytes

à noyau deutobroque ; il devient plus apparent à un stade un peu plus avancé du développemement. C'est surtout au moment où les ovules renferment des noyaux synaptènes achevés ou faisant transition entre ces derniers et les noyaux pachytènes, par conséquent dans les noyaux à arceaux parallèles, que le corps vitellin proprement dit se met le plus facilement en évidence (fig. 10, 11, 12, 13 etc.). Le centrosome légèrement plus grand se trouve manifestement entouré de toutes parts par la couche vitellogène, qui elle-même est plus développée. Sa structure est mieux marquée ; on retrouve nettement le ou les corpuscules centraux, entourés d'une zone se colorant plus faiblement par l'hématoxyline ferrique, mais souvent il renferme un petit bâtonnet parfois dilaté aux deux extrémités (fig. 13. Pl. XIV).

La division centrosomique au milieu du croissant vitellogène est fréquente : la fig. 12 représente deux corps emprisonnés au milieu de ce dernier.

Mertens (29) signale, dans quelques ovules primordiaux de chatte nouveau-né, la présence de deux sphères attractives pouvant occuper les deux pôles du noyau. Jamais nous n'avons pu observer ce fait. Le corps vitellin apparaissant toujours dans la couche vitellogène unique et en rapport avec un pôle nucléaire, il est plus que probable que l'interprétation de cet auteur est erronée.

A ce stade du développement, nous avons pu mettre en lumière, après des réactifs ne renfermant pas d'acide osmique, tels que les liquides de Zenker et de Bouin, le sublimé alcoolique acétique additionné de liquide de Zenker à parties égales, des petits grains sériés formant couronne autour du centrosome et parfois des spicules droits ou incurvés, nettement granuleux, se colorant intensément en bleu par l'hématoxyline ferrique (fig. 13).

Von Winiwarter et Sainmont, dans leur récent travail sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (63), signalent l'existence dans l'oocyte de chatte d'une formation annulaire spéciale. Cette formation, qui peut également se présenter sous forme de filament incurvé ou de fouet " est tou-

jours renfermée dans la partie sombre du cytoplasme, correspondant aux mitochondries : le protoplasme compris à l'intérieur de l'anneau ne diffère en rien de celui qui l'entoure ; on n'y trouve aucun corpuscule pouvant être interprété comme corpuscule central. „

Ces auteurs, ayant pris connaissance de notre communication préliminaire relative à la vitellogenèse de l'ovule de la chatte, font remarquer, à tort, que nous n'avons pas mentionné cette formation. Nous identifions l'anneau et le filament incurvé ou fouet de von Winiwarter et Sainmont avec la couronne granuleuse et les spicules que nous venons de décrire et qui ont été signalés dans notre communication préliminaire, page 8.

Sur des préparations très bien réussies et démonstratives, toutes ces formations entourent le centrosome ; mais il peut arriver que le corpuscule central se trouve sur la coupe suivant celle où on constate la présence de la vésicule homogène ou corps vitellin, mal délimité de la zone protoplasmique environnante ou couche vitellogène. Dans ces conditions l'anneau semble siéger vers le milieu de cette zone.

En réalité les spicules, les anneaux, etc., sont des formations d'origine mitochondriale, des chondriokontes de Meves, ou de petits pseudochromosomes de O. Vander Stricht, engendrés dans le voisinage du corps vitellin.

Aux stades suivants, le corps vitellin semble disparaître chez un grand nombre de mammifères, ou tout au moins les auteurs ne parviennent pas à le mettre en évidence.

Chez la chatte il persiste, tout en subissant une série de modifications curieuses, pendant toute la période d'accroissement de l'oocyte de premier ordre.

Dans les ovules à noyau diplotène, la couche vitellogène se désagrège ; le corps vitellin emprisonné jusqu'à ce moment devient libre, s'éloigne de la vésicule germinative, se retrouve au milieu du cytoplasme et atteint même la périphérie du vitellus.

On peut suivre cette évolution, en même temps que celle de la couche vitellogène, dans les ovaires de chattes âgées de

quatre à six semaines, surtout après fixation au procédé de Benda (fig. 19, 21, 22, photogr. 47, 51, pl. XIV et XVI).

Les figures 19, 20, 21, 22, 48, etc., pl. XIV et XVI, montrent nettement sa présence, tantôt dans le voisinage de la vésicule germinative, tantôt au milieu du cytoplasme, tantôt tout près de la membrane cellulaire. Il est homogène ou très finement granuleux; parfois il renferme un, deux ou trois corpuscules centraux (fig. 21, *b*, 22). Le chromotrope le colore en rose. A la périphérie de l'ooplasme, il peut s'accoler intimement contre la membrane cellulaire, comme dans les figures 21, 22, 23.

Henneguy (17) décrit chez une jeune chatte de quatre mois un corps arrondi finement granuleux et coloré par la safranine; dans l'intérieur de ce corps on ne peut observer aucun corpuscule central. Sa figure représente un follicule primordial à épithélium cubique. Cet élément correspond incontestablement à notre corps vitellin éloigné du noyau, occupant un siège excentrique.

Lors de ce déplacement du corps vitellin, on observe des phénomènes intéressants et très importants pour ce qui regarde l'interprétation des nombreux éléments que nous trouvons chez la chatte adulte dans les petits ovules de la couche corticale.

Le centrosome, comme nous l'avons vu, peut se diviser dans les jeunes oocytes, quoique rarement, au sein du croissant vitellogène. Mais cette division du corps vitellin s'opère bien plus souvent au moment où il est dénudé et libre. Nettement arrondi jusqu'alors, il apparaît maintes fois, au sein du cytoplasme ou à sa périphérie, sous forme d'un corps allongé, étranglé, parfois irrégulier et réniforme (fig. 19). La division s'opère et dans quelques follicules primordiaux, appartenant à des ovaires jeunes (cinq à six semaines) et entourés d'une rangée de cellules aplaties ou cubiques, on décèle la présence de deux et parfois de trois corps vitellins (fig. 22).

Ces quelques faits démontrent à l'évidence que le corps de Balbiani, chez la chatte, ne disparaît point. Son évolution ultérieure est curieuse et tend à prouver qu'il joue un rôle important dans la vitellogenèse.

Nous venons de dire que dans les oocytes à noyau diplotène, appartenant à des ovaires jeunes, il s'étrangle et se divise en deux. Cette division se répète un grand nombre de fois et cela surtout chez la chatte adulte. L'ovaire adulte est constitué par une couche parenchymateuse, formée en grande partie d'oocytes entourés d'une rangée de cellules folliculaires aplaties et de quelques follicules à une ou deux rangées de cellules folliculaires cubiques. Plus profondément existent des follicules moyens à plusieurs rangées de cellules et des follicules de De Graaf parfaits avec antrum et disque proligère

Les petits ovules de la zone corticale offrent une structure intéressante. Le noyau diplotène ou dictyé occupe par rapport au vitellus une position excentrique ; au sein du cytoplasme existent un grand nombre d'éléments de forme, de structure et d'aspect analogues au corps vitellin. Ils résultent incontestablement d'une division répétée du corps de Balbiani et se colorent de la même manière par le chromotrope et le vert-lumière. La plupart sont nettement arrondis, quelques-uns sont allongés, étranglés, bosselés ou irréguliers ; leur volume est variable, ce que démontrent clairement nos photographies. A côté de corps vitellins de moyenne grandeur, il en existe d'autres dont le diamètre est deux fois, ou trois fois plus grand (fig. 27, 28, pl. XIV ; photogr. 46, 49, 55, 56, pl. XVI). Les figures montrent la présence dans une et même cellule, tantôt d'un seul élément pareil, tantôt de deux, trois, quatre, etc...; certains ovules en renferment parfois jusqu'à dix.

La plupart siègent périphériquement au milieu de la couche corticale mitochondriale, d'autres au sein de la couche centrale du vitellus. Une mince bordure cytoplasmique claire, hyaline, les entoure fréquemment.

Un fait intéressant à signaler, c'est que ces corps vitellins continuent à se diviser. Nous avons déjà attiré l'attention sur leur aspect allongé, étranglé ; la photogr. 56 représente un élément pareil où l'étranglement est presque complet et où les deux corps dérivés sont déjà nettement apparents. Ces images sont très nombreuses (photogr. 50).

Après fixation par les liqueurs ne renfermant pas d'acide

osmique, tels que le sublimé alcoolique acétique, et la liqueur de Bouin, leur structure est homogène et ils se colorent en rose par le chromotrope. Après fixation par le procédé de Benda ou par la liqueur de Flemming, ils offrent une structure intéressante, nettement granuleuse, surtout apparente après la coloration par la safranine (photogr. 46, 50) et par l'hématoxyline ferrique non suivie de celle au chromotrope (fig. 27, 28, photogr. 53).

La safranine présente peu d'affinité pour ces éléments ; ils gardent une teinte grisâtre et renferment dans leur intérieur une foule de granulations très apparentes à aspect plus foncé (photogr. 46, 50).

Quelle est la signification, l'origine de ces granulations ?

Plusieurs hypothèses peuvent être émises ; la plus simple est la suivante : les granulations proviennent d'une division multiple des corpuscules centraux du corps vitellin. Remarquons que ces grains ne sont pas safraninophiles ; après la coloration par la safranine et l'acide picrique, ils conservent une coloration grisâtre, foncée. Pour admettre cette hypothèse, il faut recourir à celle d'une transformation chimique au cours de la multiplication des corpuscules, opinion qui ne peut être démontrée.

La persistance de la coloration foncée, après la safranine, fait songer à une 2e hypothèse : celle d'une division régressive multiple du corps vitellin, accompagnée d'une métamorphose graisseuse au profit du cytoplasme, celle-ci se manifestant par l'apparition de petites granulations graisseuses. Cette opinion ne peut être acceptée, car d'abord les grains ne présentent point la coloration noirâtre caractéristique ; de plus, l'essence de térébenthine, qui dissout la substance graisseuse, n'a aucune action sur eux : ces granulations persistent nettement après le traitement à la thérébentine. Leur nature mitochondriale doit être également rejetée. Il en résulte donc que leur origine et leur signification restent obscures.

Ces corps granuleux, multiples, résultant d'une division du corps vitellin primitif, propres aux petits oocytes de la couche corticale de l'ovaire adulte, persistent pendant toute la crois-

sance ultérieure de l'œuf. On les retrouve dans les œufs des follicules moyens et des follicules de De Graaf parfaits (fig. 30, pl. XIV; photogr. 62, pl. XVII). Ils y diminuent probablement en nombre, mais malgré les difficultés qu'on rencontre à les mettre en évidence au milieu du vitellus, bourré de granulations et de boules graisseuses volumineuses et nombreuses, on en observe quelques-uns, non seulement dans les ovules arrivés à la fin de la phase d'accroissement, mais même dans les œufs au stade des 1er et 2e fuseaux de maturation. On les retrouve alors au milieu des boules graisseuses ou dans la couche vitelline périphérique, sous forme de corps plus ou moins arrondis, colorés en rose par le chromotrope, après la coloration par l'hématoxyline.

Généralement toutefois, dans l'oocyte au stade de la fécondation, ces éléments ont subi des modifications si profondes, qu'on ne parvient plus à les retrouver. Il faut donc admettre qu'ils disparaissent au profit du vitellus proprement dit. Il nous est impossible de déterminer plus exactement les parties constituantes de l'ooplasme qu'ils engendrent.

Nous terminons cette étude du corps vitellin proprement dit, en ajoutant que ces corps multiples ne sont pas toujours constants dans toutes les préparations. Ainsi, dans certains ovaires, les corps chromotropophiles existent dans tous les ovules de la zone corticale ; dans d'autres, du même âge, on ne les aperçoit guère, ou bien ils n'existent que dans de rares oocytes.

Ce fait est dû surtout à l'action du fixateur. Les fixateurs par excellence sont les liquides de Benda, de Flemming, de Bouin et le sublimé alcoolique acétique.

Avant de terminer, quelques mots encore concernant le travail de von Winiwarter et Sainmont (63). Ces auteurs semblent ne pas avoir vu nettement le centrosome au sein de la couche vitellogène. Ils parlent bien de l'existence dans les cellules à noyau poussiéroïde, transitoire et deutobroque " d'une zone plus sombre et plus compacte en forme de croissant, en rapport avec le noyau et entourant la sphère attractive ", mais ils ajoutent que dans cet amas il n'est pas possible de découvrir le corpuscule central, ni la sphère. Aux stades synaptène et suivants,

la zone compacte devient beaucoup plus apparente; dans aucun de leurs dessins se rapportant à ces stades, ils n'ont figuré la sphère attractive ou centrosome. Enfin page 237, dans leurs conclusions, ils disent : “ la sphère attractive est difficilement visible „.

Il est certain que, dans les oocytes à noyau poussiéroïde et transitoire, il est difficile de découvrir le centrosome au sein de la mince zone compacte, mitochondriale, entourant le noyau ; nous ne l'avons jamais trouvé. Au stade du noyau deutobroque on peut le mettre en évidence, quoique difficilement ; mais aux stades suivants on le trouve au sein de la zone compacte ou couche vitellogène avec toute la netteté désirable. A ce moment le corpuscule central peut se présenter sous forme d'un bâtonnet, et le centrosome lui-même peut subir une division en deux.

Enfin aux stades ultérieurs, c'est-à-dire après la désagrégation du croissant vitellogène, von Winiwarter et Sainmont n'ont pu poursuivre l'évolution du centrosome ou corps vitellin proprement dit.

CHAPITRE III.

A. — Aperçu historique sur la couche vitellogène et les formations mitochondriales dans l'œuf de mammifère.

La couche vitellogène entourant le corps de Balbiani a été figurée par Mertens (29) dans l'oocyte de chat nouveau-né et d'enfant nouveau-né, par O. Vander Stricht (51) dans l'œuf de la femme, plus tard dans l'ovule d'embryon de chauve-souris et d'enfant (52), enfin dans l'œuf de la femme (53).

H. Rabl (32) la représente dans l'oocyte de la femme ; von Winiwarter (61) dans celui d'enfant, Skrobansky (40), Lams et Doorme (26) dans les ovules de cobaye.

La structure mitochondriale de la couche vitellogène chez les mammifères a été démontrée par O. Vander Stricht (52, 53) et par H. Lams et Doorme (26).

Benda (6) est parvenu à colorer et à décrire les mitochondries répandues dans toute l'étendue du vitellus de l'œuf de souris à des stades différents de l'accroissement. O. Vander Stricht dans l'œuf de chauve-souris (57) et plus tard dans celui de la femme (53), Lams et Doorme (26) dans celui de la souris blanche et du cobaye, ont décrit des dispositions variables de ces granulations, spéciales aux différentes phases de son évolution au stade d'accroissement. A la fin de cette période, il existe dans l'œuf de chauve-souris et dans celui de la femme, d'après O. Vander Stricht, une zone périphérique mince, de nature mitochondriale, circonscrivant une couche centrale deutoplasmique renfermant encore un grand nombre de mitochondries et de chondriomites.

Ces grains spécifiques n'ont guère attiré l'attention de Sobotta (41) dans son étude sur l'œuf de souris blanche, ni de Rubaschkin (35) dans celle de l'ovule de cobaye, ni de Gerlach (14) dans l'œuf de souris blanche. Mais il est probable qu'elles correspondent à certaines granulations observées dans le vitellus vivant des mammifères par Ed. Van Beneden (45, 48), dans

les ovules de lapine et de chauve-souris, par Nagel (30) et par Waldeyer (62) dans l'ooplasme de la femme.

B. — Couche vitellogène et mitochondries dans l'ovule de chatte.

Dans l'ovule de chatte, la description de la couche vitellogène et des mitochondries de Benda correspond à un des chapitres les plus intéressants de l'étude de la vitellogenèse. Au point de vue de l'évolution de ces formations, on peut distinguer, pendant toute la période d'accroissement de l'oocyte de premier ordre, trois phases principales, caractérisées :

1. La première par l'apparition de la couche vitellogène ;
2. La seconde par la désagrégation de la couche vitellogène ;
3. La troisième par la formation, aux dépens d'une partie des mitochondries d'une couche, compacte périphérique.

1. En tenant compte des différents types nucléaires décrits, on peut dire que la première phase évolue dans l'oocyte, à partir de l'existence du noyau protobroque jusqu'à la formation du noyau pachytène.

Il a été dit plus haut que le corps vitellin proprement dit apparaît dans l'oocyte à noyau deutobroque, au pôle nucléaire en rapport avec la plus grande quantité de cytoplasme. Après fixation par des réactifs ne renfermant pas d'acide osmique, le corps de Balbiani, en rapport direct d'une part avec le noyau, d'autre part avec l'exoplasme, siège au milieu de la partie la plus épaisse d'un croissant mince, à structure homogène et colorable en rose par le chromotrope, comme le montrent les fig. 3 et 4. Ce croissant étroit, en connexion intime avec une partie de la membrane nucléaire d'étendue variable, constitue l'ébauche de la couche vitellogène. Le procédé de Benda la fait ressortir avec le plus de netteté et démontre à l'évidence sa nature mitochondriale. Les fig. 1 et 2 (Pl. XIV), se rapportant à des oocytes à noyau deutobroque, fixés de cette manière et colorés à l'hématoxyline ferrique, montrent cette couche vitellogène ébauchée, formée de granulations colorées très vivement. Ces granulations mitochondriales sont tassées et serrées

de manière à engendrer une couche endoplasmique étroite, en forme de croissant, qui correspond à celui coloré en rose dans les préparations précédentes et qui embrasse par sa concavité à peu près la moitié du segment central de la vésicule germinative. Tantôt réparties très irrégulièrement au sein de cette couche vitellogène, elles sont souvent sériées sous forme de filaments granuleux, droits ou incurvés, de chondriomites, ou bien tassées en petits amas mitochondriaux irréguliers. Parfois cette couche mitochondriale se réduit à une rangée de grains, accolés à une partie de la membrane nucléaire.

Dans les ovules à noyau synaptène et à noyau pachytène (fig. 6 à 15), la couche vitellogène, souvent difficile à voir à l'état d'ébauche dans les oocytes précédents, se met en lumière avec toute la netteté désirable et prend une forme de croissant caractéristique. Epaissie et plus dense, elle se concentre autour du centrosome, qu'elle enveloppe de toutes parts. Son aspect homogène, mais plus foncé, se conserve le plus souvent après fixation par le procédé de Benda et par la liqueur de Flemming (fig. 14, 15), les granulations mitochondriales s'étant fortement tassées ou peut-être fusionnées en une masse compacte très colorable par l'hématoxyline dans laquelle on ne parvient pas à distinguer des granulations nettement séparées. Nos méthodes de fixation sont-elles ici en défaut, ou bien est-ce que réellement ces microsomes spécifiques subissent une transformation spéciale, les rendant invisibles? Nous n'oserions nous prononcer au sujet de cette question, mais dans les oocytes au même stade de développement et dans ceux, plus avancés en évolution, d'ovaires un peu plus âgés (trois semaines), on constate ces granulations avec la plus grande évidence au niveau de la même couche vitellogène.

Nous avons signalé plus haut, après l'emploi de certains réactifs, l'existence tout autour du centrosome de grains tantôt formant couronne, tantôt disposés en spicules (V. Winiwarter) ou petits pseudo-chromosomes (O. Vander Stricht). Ces formations correspondent à des granulations mitochondriales plus

grossières ou à des chondriomites de la couche vitellogène en rapport direct avec la périphérie du corps vitellin (fig. 13).

Dans des ovaires de jeunes chattes (cinq semaines) on constate des oocytes jeunes au stade du noyau diplotène, autour duquel le croissant vitellogène est notablement plus large et plus volumineux ; il a une tendance à circonscrire la plus grande partie de leur membrane. Du côté de l'exoplasme plus clair, il présente une délimitation relativement bien marquée. Le corps vitellin existe généralement vers la région la plus épaisse de cet endoplasme compact (fig. 19, Pl. XIV ; phot. 47, v. Pl. XVI).

La structure du croissant est manifestement mitochondriale ; les grains sont souvent tellement serrés qu'il est difficile de voir leur sériation en chondriomites. A certains endroits on aperçoit toutefois des filaments granuleux. Dans l'exoplasme voisin on observe des mitochondries et des chondriomites plus rares, isolés, éparpillés irrégulièrement. Certaines régions en sont entièrement dépourvues et sont constituées simplement par le mitome et le paramitome pâles du cytoplasme (voir l'exoplasme des fig. 19 et 21, *a*).

Dans des oocytes plus jeunes, à des stades de transition entre ceux à noyau synaptène et à noyau pachytène, on observe parfois une couche vitellogène beaucoup plus étroite, au sein de laquelle les granulations spécifiques sont bien visibles. Ces ovules se rapportent à un ovaire de chatte de trois semaines, fixé par la liq. de Flemming.

2. Les différentes étapes de la désagrégation proprement dite de la couche vitellogène s'observent après fixation par le procédé de Benda dans les oocytes jeunes, à noyau diplotène, appartenant surtout à des ovaires de chats âgés d'environ cinq semaines.

Les coupes non collées sur porte-objet fournissent les meilleures préparations pour cette démonstration et donnent des images précieuses au point de vue de la mise en évidence des formations mitochondriales.

A un premier stade (fig. 21, *a*, v. photog. 52, m.) la couche vitellogène, tout en étant encore adjacente à la vésicule germinative, ne présente plus cet aspect compact, aussi régulier

qu'aux stades précédents ; elle est dissociée en microsomes et en chondriomites plus espacés, plus distants. Par le fait même, le croissant devient plus large, plus volumineux ; il tend à entourer le noyau souvent sur une plus grande étendue encore, tout en conservant une structure mitochondriale plus évidente, les microsomes spécifiques et les filaments tortueux ou droits de Benda se colorant toujours en bleu intense par l'hématoxyline ferrique.

En même temps, et c'est là surtout la caractéristique de ce stade d'évolution, la délimitation du croissant du côté de l'exoplasme voisin s'efface; les grains envahissent cette zone claire voisine, dans laquelle les formations mitochondriales deviennent graduellement plus nombreuses. Le corps vitellin, moins serré dans sa couche palléale, devient plus libre, plus dégagé, et il n'est pas rare de constater une dissociation totale de la couche mitochondriale, qui sépare primitivement cet élément de l'exoplasme, de sorte qu'à cet endroit le croissant paraît interrompu, alors qu'il est encore bien marqué vers ses extrémités.

A un second stade, la désagrégation du croissant s'achève ; les grains spécifiques se répartissent irrégulièrement dans toute l'étendue du vitellus, au point qu'on ne distingue plus les deux zones endoplasmique et exoplasmique. Le ou les corps vitellins s'éloignent les uns des autres et de la membrane nucléaire ; ils se rapprochent graduellement de la périphérie du vitellus (fig. 21, *b*, 22).

A un troisième stade (photogr. 51, pl. XVI), la désagrégation du croissant est complète, on n'aperçoit plus trace de la couche mitochondriale primitive ; les microsomes spécifiques, dont le nombre augmente graduellement, se sont éparpillés de plus en plus et gagnent toutes les profondeurs du cytoplasme.

Dans les ovaires jeunes, ce troisième stade persiste assez longtemps et se retrouve dans les oocytes pourvus d'un noyau au stade dictyé et entourés d'un épithélium folliculaire constitué de deux ou de plusieurs rangées cellulaires.

A l'âge de deux à trois mois environ, les débuts de la désagrégation ne sont plus guère visibles et on voit apparaître

dans les oocytes jeunes de la couche corticale, entre les mitochondries uniformément réparties, de nombreuses boules graisseuses, relativement rares dans le même oocyte à un âge moins avancé.

Pendant cette phase de désagrégation de la couche vitellogène, les mitochondries, dans la majorité des cas, se présentent sous forme de grains, de volume variable, pouvant engendrer des amas irréguliers ou bien des boyaux ou cordons épais de structure mitochondriale (les boyaux vitellogènes de O. Vander Stricht). Sur un certain nombre de coupes non collées, nous avons pu constater la présence de chondriomites, de filaments enchevêtrés, engendrant parfois un véritable treillis. La fig. 19 en donne une idée très imparfaite.

Enfin remarquons dans les oocytes précédents les modifications intéressantes du corps vitellin, que nous avons décrites plus haut, telles que sa division, les modifications au point de vue de son siège, etc.

3. En règle générale, les mitochondries de Benda, dont nous avons suivi l'évolution jusqu'à ce moment, réparties plus ou moins uniformément dans toute l'étendue du vitellus, ont une tendance à se condenser vers la couche périphérique du cytoplasme, de manière à engendrer dans le voisinage de la membrane cellulaire une zone mitochondriale très mince, d'autant plus accusée que l'accroissement progresse.

La répartition plus ou moins régulière des microsomes spécifiques, caractéristiques pour le stade de la désagrégation achevée du croissant vitellogène, peut persister quelque temps dans des ovules relativement volumineux, entourés de plusieurs assises épithéliales, surtout dans les ovaires de jeunes chattes, et même, mais plus rarement, dans des ovaires d'adultes. Des œufs appartenant à des follicules de De Graaf où l'antrum apparaît ou existe déjà, peuvent montrer cet aspect. Mais le plus souvent et surtout dans les ovaires d'adultes, à mesure que l'épithélium folliculaire devient plus épais et que l'oocyte augmente en diamètre, le nombre des mitochondries augmente, surtout au niveau de la couche corticale du vitellus.

Toutefois dans les ovules les plus jeunes, les moins avancés au point de vue de leur évolution et entourés d'une rangée de cellules épithéliales aplaties ou cubiques, on observe une disposition un peu spéciale, mais constante. Autour de la vésicule germinative légèrement excentrique, existe une zone endoplasmique claire, à mitome et paramitome à peu près exempts de mitochondries et de chondriomites. Ces microsomes sont généralement tous condensés au niveau d'une couche exoplasmique épaisse, constituée de mitochondries, de chondriomites, d'amas irréguliers ou de boyaux vitellogènes dont les microsomes sont plus tassés et plus serrés (fig. 27, 28, pl. XIV, photogr. 55 m., pl. XVI). Cette couche mitochondriale, atteignant ou dépassant la largeur de la zone endoplasmique, renferme généralement plusieurs corps vitellins, autour desquels les grains sont parfois particulièrement condensés (fig. 27, 28, pl. XIV, photogr. 55, cv, pl. XVI).

Par suite du volume considérable de ces corps vitellins dans certains oocytes, les mitochondries comprimées en travées ou en amas plus grands et plus compacts, sont refoulées du côté et à l'intérieur de l'endoplasme, conformément à l'image représentée par la photogr. 53.

Dans les ovules plus développés et plus grands (fig. 27, 31, 32, pl. XIV, photogr, 60, 61, pl. XVI et XVII), de volume moyen et appartenant à des follicules dont l'épithélium est stratifié, ou bien plus volumineux encore et propres à des follicules de De Graaf parfaits, les formations mitochondriales sont réparties toujours d'une manière plus ou moins régulière, ou plus ou moins uniforme, dans toute l'étendue du vitellus, sous forme de microsomes éparpillés, de chondriomites, de travées, de boyaux ou d'îlots plus condensés au sein de la charpente cytoplasmique, qui sépare les boules graisseuses, dont le nombre augmente à mesure que l'œuf grandit.

Conformément à ce qui a déjà été signalé, elles engendrent généralement une couche mitochondriale vitelline continue relativement mince, à la périphérie du vitellus (phot. 60, 61, pl. XVI et XVII).

Cette zone corticale ne renferme point les boules graisseuses, mais contient le plus souvent un corps énigmatique dont il sera question plus loin.

Sur plusieurs préparations, nous avons pu constater une plus grande abondance des amas mitochondriaux autour de la vésicule germinative centrale.

Dans les oocytes arrivés à la fin de la période d'accroissement, on retrouve approximativement la même disposition.

La photographie 67, pl. XVII, représente un ovule appartenant à un follicule volumineux, destiné à la déhiscence. d'un ovaire de chatte sacrifiée pendant la période du rut. Elle donne une image nette de la couche mitochondriale corticale (m), renfermant le corps énigmatique ; les mitochondries existent à toutes les profondeurs du cytoplasme et occupent une disposition régulière au sein de la charpente vitelline logeant les boules de graisse. Les amas grossiers, signalés dans les follicules moins avancés, se sont dissociés et font défaut (voir également les photogr. 69, 70, m., pl. XVII).

Il résulte de notre description de la disposition des formations mitochondriales, au sein du vitellus de l'oocyte pendant la période de l'accroissement, qu'on peut reconnaître trois phases principales et successives dans leur évolution :

1) La première, caractérisée par l'apparition et par la multiplication de ces microsomes autour du corps vitellin comme centre, au sein de la couche vitellogène.

Ce stade est de courte durée ; il est propre aux oocytes à noyaux protobroque, deutobroque, leptotène, synaptène, pachytène, diplotène. Il n'existe que dans les ovaires jeunes.

La vésicule germinative, circonscrite par le croissant mitochondrial, paraît intervenir activement dans leur élaboration, à laquelle préside incontestablement le corps vitellin. Jamais il ne nous a été donné d'apercevoir des images qui démontrent une participation directe des granulations nucléiniennes à la genèse de ces microsomes spécifiques, comme certains auteurs l'affirment. Si le noyau intervient, c'est d'une manière indirecte, en exerçant une influence de voisinage, de nutrition, sur la zone endoplasmique, dont on constate encore des vestiges dans des

œufs de moyen volume, alors que le croissant vitellogène a disparu depuis longtemps.

2) Cette influence du noyau sur la multiplication des mitochondries paraît encore manifeste durant la seconde phase, caractérisée par une dissociation, une désagrégation du croissant vitellogène.

Ce stade est également de courte durée; on l'observe dan les ovaires jeunes de chattes, âgées de cinq semaines environ, jamais dans les ovaires adultes.

3) Durant la troisième phase, caractérisée par une disposition plus régulière des formations mitochondriales dans toute l'étendue du vitellus, l'intervention nucléaire dans leur élaboration et leur multiplication est en général inappréciable. De rares images semblent cependant prouver que le rôle du noyau continue encore. Mais la nutrition de l'œuf aux dépens de l'épithélium folliculaire devient de plus en plus évidente.

L'apparition de la couche corticale mitochondriale dénote une genèse de ces parties constituantes du vitellus, plus active du côté de la surface, en rapport immédiat avec les prolongements des cellules les plus voisines.

Ce stade est d'une durée très longue. Il existe dans tous les ovaires à partir d'un certain âge, pour tous les ovules des follicules de De Graaf moyens et parfaits.

CHAPITRE IV.

Granulations safraninophiles (colorables) et corps énigmatiques.

A. — Aperçu historique.

Des granulations ou des corps colorables chromatophiles ont été signalés dans l'ooplasme des mammifères par Lœwenthal (27), Holl (18), Mertens (29), Gurwitsch (15), K. V. Skrobansky (40). Von Winiwarter (59) décrit un corps volumineux semblable dans le vitellus de l'œuf de lapine, qu'il considère comme corps de Balbiani. Dans une seconde communication, il fait connaître le véritable corps vitellin de l'oocyte de lapine ou idiozome, différent de celui signalé dans son premier mémoire. Ce dernier doit probablement être rapproché des formations décrites par Gurwitsch et Skrobansky dans l'ovule de cobaye, homologues, d'après eux, aux corps chromatoïdes observés dans les spermatocytes.

B. — Dans les oocytes de chatte.

Comme nous l'avons déjà signalé en décrivant le corps vitellin, aux stades initiaux de la période de croissance et à partir de l'existence du noyau deutobroque, on trouve au sein du cytoplasme des oocytes, des petites granulations se colorant fortement par l'hématoxyline ferrique et par la safranine. On poursuit facilement leur existence dans les ovules jeunes jusqu'à la formation du noyau diplotène (fig. 3, 4, 5, 10, 14, 20, *g*. Pl. XVI). Elles ne sont guère nombreuses: deux, trois, quatre, cinq, rarement plus. Tantôt elles entourent le croissant vitellogène, encore peu développé, ou sont très rapprochées du corps vitellin proprement dit, (fig. 17, *g*). Dans ce cas, il s'agit de ne pas les confondre avec les corpuscules centraux de ce dernier, comme nous le supposons avoir été fait par Henneguy (voir plus haut)

pour l'ovule de chatte nouveau-née. Tantôt elles occupent toutes les profondeurs du cytoplasme. Elles sont souvent circonscrites par une mince aréole claire, hyaline, cytoplasmique (fig. 20, *g*).

Dans les ovaires adultes on les retrouve, avec plus de netteté, au sein du vitellus des oocytes jeunes de la couche corticale ; leur volume a faiblement augmenté. Dans ces derniers, on observe maintes fois au centre des granulations, surtout après fixation par le sublimé aqueux à 2 %, l'existence d'une zone claire : le grain prend l'aspect d'un petit anneau. Ce fait présente un grand intérêt.

Les granulations cytoplasmiques colorables qui, au début de l'accroissement ovulaire, ne semblent jouer qu'un rôle très accessoire dans le processus de la vitellogenèse, acquièrent une importance beaucoup plus grande pendant le développement ultérieur de l'ovule. Elles présentent une évolution tout-à-fait curieuse et très intéressante.

Dans l'ovule entouré d'une assise de cellules folliculaires élevées ou de plusieurs assises, qu'il appartienne soit à un ovaire jeune (cinq à six semaines) ou bien adulte, on constate d'une façon constante l'existence d'un ou de deux corps, que nous proposons, leur signification restant obscure, de désigner sous le nom de " corps énigmatiques ".

Nous les avons mis en évidence par tous les fixateurs employés, tels que le sublimé aqueux à 2 %, le sublimé alcoolique acétique, les liquides de Flemming, de Benda, de Hermann, et toujours avec la même netteté.

Ils se présentent dans les oocytes précités sous forme de petits corps sphériques ou elliptiques, se colorant fortement par l'hématoxyline et par la safranine, et siégeant au sein du vitellus tantôt dans le voisinage du noyau central, tantôt à la périphérie du vitellus (photog. 58, 59, ce. Pl. XVI). Leur aspect peut être homogène ; toutefois ils montrent souvent une petite zone centrale claire, comme le représente la photographie 58, *ce*.

Leur origine nous semble indiscutable et on peut affirmer avec certitude qu'ils proviennent des granulations safraninophiles cytoplasmiques, que nous avons décrites dans les ovules plus jeunes.

Ils résultent d'un accroissement de ces dernières, se limitant à un ou à deux grains privilégiés, puisqu'on ne rencontre jamais plus de deux corps énigmatiques dans un seul et même ovule de moyenne grandeur. En effet, au début, leur volume ne dépasse que légèrement celui des grains cytoplasmiques des ovules à noyau diplotène ; leur structure est identique, et le stade de développement de l'oocyte, dans lequel nous venons de les décrire, succède directement à celui des ovules renfermant les grains safraninophiles multiples.

Aux stades ultérieurs de l'accroissement ovulaire, ces éléments énigmatiques augmentent en diamètre, évoluent d'une façon très intéressante et aboutissent à la formation de corps (un ou deux) dont la structure rappelle celle du corps vitellin proprement dit, tout-à-fait développé, tel qu'on le trouve chez certains mammifères.

A mesure que l'oocyte avance dans son développement, leur volume augmente et leur aspect de vésicule, avec partie centrale moins foncée, devient plus apparent (fig. 31, *ce*) ; en même temps ils gagnent la périphérie et dans les follicules où l'antrum est constitué, ils siègent dans la zone vitelline tout-à-fait corticale, au milieu de la couche mitochondriale périphérique.

Après l'apparition de la zone centrale claire, une seconde différentiation se montre au milieu et vers le centre du corps, sous forme d'un corpuscule très avide de matière colorante (fig. 30, Pl. XIV, photogr. 63, *ce* etc.. Pl. XVII).

La photographie 63 (*ce*) se rapporte à un oocyte d'un follicule de De Graaf, fixé par la liqueur de Flemming et coloré par la safranine. Dans la zone corticale plastique du vitellus, exempte de boules graisseuses, siège un corps énigmatique, nettement sphérique. Il renferme une granulation centrale safraninophile, entourée, d'une zone claire intermédiaire; tout autour de cette dernière existe une zone foncée, également safraninophile et formant une enveloppe relativement épaisse. Remarquons que dans le même ovule, dont la photographie 62 représente une seconde coupe, on trouve quatre corps vitellins granuleux,

dont un est clairement figuré sur cette dernière (*cv*) dans le voisinage du noyau.

Dans les ovules plus développés encore, et au stade de la maturation et de la fécondation, et même dans les ovules en voie de segmentation, on retrouve le ou les deux corps énigmatiques avec les mêmes caractères.

La fig. 32 (*ce*) (Pl. XIV) et les photogr. 64, 65, 67, 68 (*ce*) (Pl. XVII), se rapportent à des oocytes arrivés à la fin de la période d'accroissement et renfermant une vésicule germinative périphérique. Elles donnent une idée très exacte de la structure, du siège et de la forme de ces éléments.

La photographie 68 (*ce*) représente une coupe tangentielle de la surface du vitellus et montre un superbe corps énigmatique sphérique, coloré par l'hématoxyline ferrique, dont les trois parties constituantes : granulation centrale, couche intermédiaire pâle et couche corticale foncée, sont très apparentes.

Dans la photogr. 67, *ce*, le corps énigmatique plus petit et elliptique montre la même structure et siège au milieu de la couche corticale mitochondriale : il est entouré d'une aréole cytoplasmique claire. Le grain central et la couche externe sont d'un bleu très foncé, noirâtre.

Les deux photographies 64, 65, *ce*, appartiennent au même oocyte ; deux corps énigmatiques existent, l'un assez rapproché, l'autre plus éloigné de la vésicule germinative.

La différentiation en trois parties constituantes n'est pas toujours manifeste sur toutes les préparations. La fixation peut être défectueuse ; la coloration peut être ou trop forte ou trop faible. Dans ces cas le corps énigmatique est homogène et présente soit une teinte foncée noirâtre et uniforme (photogr, 64, 65, *ce*), soit une teinte pâle. Dans les corps énigmatiques faiblement colorés, ce qui arrive surtout après la fixation par la liqueur de Bouin, on peut parfois constater la présence de deux, trois granulations centrales intensément colorées.

En résumé, les corps énigmatiques se forment au dépens de petites granulations safraninophiles, qui apparaissent dans les ovules jeunes, granulations qui grandissent, se différencient et qui, à un stade avancé de l'accroissement, engendrent des

corps arrondis ou ovalaires d'un volume comparable à celui d'un globule rouge de mammifère, dont la structure rappelle celle d'un corps vitellin typique. Répétons-le, il ne s'agit nullement d'un corps de Balbiani ; ils représentent des formations différentes, dont la signification nous est encore inconnue, mais qui semblent jouer un rôle important dans les modifications du vitellus lors de la fécondation de l'œuf.

Dans l'œuf d'aucun autre mammifère, on n'a signalé jusqu'à présent une formation pouvant se rapprocher de notre corps énigmatique.

Chez un invertébré : Sagitta, Elpatiewsky (66) a décrit un corps spécial " besonderer Körper ", qui fait son apparition dans l'œuf fécondé au moment de la conjugaison des pronucléus mâle et femelle. Ce corps se présente sous l'aspect d'une masse arrondie, homogène, et se colore par les colorants nucléaires un peu moins intensément que la chromatine. Dans l'œuf segmenté en 2, 4, 8, 16, il se retrouve toujours avec les mêmes caractères dans un des blastomères et se comporte, durant ces quatre premières divisions, comme une masse mêlée au cytoplasme, ne remplissant aucun rôle actif. Après la 4e division, c'est-à-dire dans l'œuf divisé en 16 blastomères, son importance se dessine nettement ; sous l'influence du centrosome, il entre dans une véritable phase d'activité, subit des modifications intéressantes, se rapproche du centrosome, le coiffe et prend l'aspect d'un fer à cheval ou demi-lune. La 5e division s'opère. Le blastomère qui le renferme se divise et donne naissance à deux cellules de grandeur différente : une grande, qui constitue la cellule endodermique primitive et une plus petite qui renferme le corps spécial et qui n'est autre que la cellule génitale primitive. A partir de ce moment le " besonderer Körper " se modifie encore, se fragmente et se retrouve au début dans les premières cellules génitales dérivant de la cellule primitive, pour se transformer et disparaître dans la suite.

L'auteur résume ces faits dans les termes suivants : " Das weitere Schicksal des besonderen Körpers besteht darin, dass er während den 5 folgenden Furchungsteilungen immer nur einer Furchungskugel zugeteilt wird. Das Blastomer, das aus

der fünften Teilung hervorgegangen ist und den besonderen Körper enthält, ist nichts anders als die erste Urgeschlechtszelle. Die Keimbahn der ersten und auch der nächsten anderen Urgeschlechtszellen ist also durch die Anwesenheit des mit Kernfarbstoffen sich färbenden besonderen Körpers markiert.„

Chez la chatte, le corps énigmatique, dont la structure et l'aspect ressemblent à ceux du " besonderer Körper „, existe dans l'œuf dès la période d'accroissement ; nous l'avons poursuivi jusqu'à une période avancée de la segmentation (voir plus loin). A côté d'une fonction intéressante qu'il remplit dans les modifications du vitellus lors de la fécondation de l'œuf, il est possible que cet élément nous montre, dès l'origine, la " Keimbahn „ ainsi que les premières cellules génitales constituées. Il serait donc intéressant de poursuivre le corps énigmatique plus loin que nous n'avons pu le faire.

Nous pensons également que notre corps énigmatique est représenté chez d'autres mammifères ; s'il n'a pas encore été signalé, cela tient peut-être à ce qu'il apparaît dans l'œuf plus tardivement. O. Vander Stricht (67) signale chez la chauve-souris (V. noctula au stade du premier fuseau de segmentation), l'existence d'une masse colorée intensément par les colorants nucléaires (v. fig. 54, photogr. 32). Cet élément, propre à l'œuf de chauve-souris, montre quelque analogie avec notre corps énigmatique.

CHAPITRE V.

A. Historique du deutoplasme, de la graisse et du vitellus en général.

Pour faire une étude sérieuse et détaillée des processus de la vitellogenèse au stade d'accroissement, il faut évidemment examiner l'oocyte depuis le stade le plus jeune jusqu'au moment de l'apparition du premier fuseau de maturation ; on doit mettre en évidence les parties constituantes essentielles de l'ooplasme et noter leurs transformations. Enfin, il est important de décrire en détail tous les éléments nouveaux qui font leur apparition, ne perdant pas de vue que, dans l'ovaire des mammifères, il existe généralement un nombre très considérable d'œufs en voie de dégénérescence, qu'il importe de reconnaître et de distinguer d'autres oocytes de moyenne grandeur ou très volumineux, normaux. Ces derniers seuls doivent être pris en considération, car ils peuvent nous renseigner exactement sur les processus de la genèse du vitellus formateur et du vitellus nutritif.

Parmi les travaux récents parus sur la structure de l'ooplasme des mammifères, la plupart des auteurs se contentent de décrire quelques oocytes très jeunes ; ils étudient un ovule de moyenne grandeur. Souvent même l'histologiste figure un œuf, sans donner des indications précises au sujet de son état normal ou pathologique.

Ainsi Sobotta (41), Rubaschkin (35) et Gerlach (14), dans leurs importants travaux sur la maturation et la fécondation de l'ovule de souris et de cobaye, ne donnent guère d'indications au sujet de l'accroissement du vitellus. Sobotta avoue que ces recherches sont très difficiles et qu'il ne peut déterminer très exactement la structure du vitellus. Il est vrai que l'œuf de souris blanche constitue probablement un objet peu favorable pour faire cette étude, à cause de sa pauvreté en deutoplasme.

L'œuf de chatte, comme on le verra, très riche en vitellus

nutritif, montre plus nettement les différentes étapes de la vitellogenèse.

Chose curieuse, on trouve à peine, dans de rares travaux, quelques figures représentant quelques oocytes très jeunes de chatte ou bien un ou deux ovules de moyenne grandeur.

Pour d'autres mammifères, cette étude a été faite par O. Vander Stricht pour l'œuf de Chauve-Souris (52) et pour l'oocyte de la femme (53) et par H. Lams et Doorme pour celui de cobaye et de souris blanche (26).

Dans les travaux de date plus ancienne, on trouve des données très intéressantes au sujet de l'existence de boules vitellines ou de granulations graisseuses au sein du vitellus.

Dans l'œuf ovarique mûr de chienne et de lapine, du porc, du chevreuil, Bischoff (7, 8) observe à l'état frais des granulations très réfringentes et des boules plus volumineuses graisseuses.

Ed. Van Beneden (45) confirme l'existence de ces granulations et leur augmentation en nombre et en volume, à mesure que l'œuf grandit, vers la périphérie du vitellus. Elles respectent la couche périnucléaire et celle sous-jacente à la zone pellucide.

Quand la vésicule germinative siège à la périphérie de l'ovule (Ed. Van Beneden) (46), elle s'entoure d'une " lentille cicatriculaire „ dépourvue de grains et l'œuf de lapine est constitué alors par " une couche corticale et une couche médullaire. „

Dans un troisième mémoire, Ed. Van Beneden (47) attire l'attention sur la polarité évidente de l'ovule, comparable à celle des autres vertébrés.

En 1880 (48) il revient sur cette description de l'œuf de lapin et de chauve-souris (grand fer à cheval, murin, dasycnème). Dans l'ovule à peu près mûr, il trouve, tant à l'état frais qu'après fixation, trois couches: une région centrale claire et homogène, une région corticale dépourvue de globules réfringents, claire et finement ponctuée, une couche intermédiaire très granuleuse et beaucoup plus foncée, chargée chez la chauve-souris de globules réfringents de volume très variable.

Ed. Van Beneden et Julin (49) confirment l'existence de ces trois couches pour le vitellus de l'œuf ovarique de chauve-souris.

Schenk (37) signale des granulations vitellines dans l'ooplasme de lapine et Rein (1883) (34) des boules vitellines (Dotterkugeln) dans celui de cobaye et de lapin. W. Heape, en 1886 (16), observe quelques granulations très réfringentes, de volume variable, dans le vitellus de l'œuf de taupe.

Dans l'œuf mûr de la femme, Nagel (30) décrit dans le vitellus trois zones : une couche corticale claire, une couche centrale de deutoplasme et une couche intermédiaire finement granuleuse.

Dans sa description du deutoplasme des œufs des Mammifères, Holl (18) signale, dans les œufs de chat, de lapin et de cobaye, des boules vitellines plus ou moins variables, qui se colorent en gris foncé par l'acide osmique.

L'œuf de cobaye, pourvu de sa vésicule germinative ou au stade du premier fuseau de maturation, présente, d'après Rubaschkin (35), une structure uniforme dans toute l'étendue du vitellus, qui est parsemé de granulations, de petites vacuoles, et de quelques amas plus grossiers.

Le processus de la vitellogenèse dans l'oocyte de chatte, qui nous intéresse tout particulièrement, a été décrit par V. Ebner (58) dans le traité de Kœlliker, p. 528, dans les termes suivants :

" Mit dem Wachstum der Oocytenkerne geht die Ausbildung des Dotters Hand in Hand. Schon bald nach der Theilung der Oogonien, noch zu einer Zeit, wo der Kern der Oocyten ein dichtes Kerngerüst zeigt, bemerkt man um den Kern eine dichtere Plasmaschicht (Mantelschicht Leydig), welche an einer Stelle eine halbmondförmige Verdickung zeigt. In dieser Verdickung ist ein rundlicher Körper, der Dotterkern, bemerkbar, in welchem sich an mit Eisen-Hematoxylin oder mit Safranin gefarbten Präparaten ein kleines, rundes Korn erkennen lässt. In der Umgebung des Dotterkernes treten zuerst grössere Dotterkörner (Deutoplasma) auf;

esscheint daher dass die Deutoplasmabildung unter dem Einflusse dieses Gebildes steht, das indes bald undeutlich wird. „

Dans le même chapitre, von Ebner (id. page 540,) figure deux ovules ovariques de chatte, le premier au stade du premier, le second au stade du second fuseau de maturation. Le vitellus du premier est bourré de vacuoles, désignées comme " Vacuolen im Dotter (gelöste Fettropfen ?) „ ; dans celui du second, on aperçoit une zone centrale remplie de vacuoles semblables, entourée d'une couche périphérique " feinkörnige Dotterrinde. „

B. Deutoplasme ou graisse dans l'ovule de chatte.

Dans l'ovule de chatte, on assiste à l'élaboration d'une quantité considérable de vitellus nutritif, représenté exclusivement, si on fait abstraction des formations mitochondriales, par des globules graisseux se colorant en noir par l'acide osmique.

Les préparations tout à fait démonstratives pour cette étude, doivent être fixées par les liqueurs osmiques, telles que les liqueurs de Flemming, de Hermann et le procédé de Benda.

Il est indispensable de laisser agir le réactif durant plusieurs jours (8, 15 jours pour la liqueur de Flemming), sinon les éléments deutoplasmiques graisseux ne sont colorés en noir que partiellement. Renseigné ainsi exactement sur la disposition des boules graisseuses, sur leur volume et leur forme, on peut utiliser les préparations fixées par des liquides ne renfermant pas d'acide osmique et qui montrent les boules graisseuses sous l'aspect de vacuoles ou de boules claires de volume variable. Cependant il n'est pas possible de reconnaître sur ces dernières préparations les fines granulations, parfois très nombreuses, au niveau de certaines couches du vitellus d'un œuf à la période d'accroissement, de la maturation et de la fécondation.

Aux stades initiaux du développement propres à l'ovaire jeune, âgé de moins de quatre semaines, on n'aperçoit pas trace d'éléments graisseux. La première ébauche du deutoplasme est

propre à l'ovaire âgé de cinq semaines au moins et apparaît dans quelques rares oocytes, entourés d'une rangée de cellules folliculaires élevées et dans lesquels les mitochondries sont uniformément éparpillées dans le cytoplasme, sous forme de quelques boules graisseuses ne présentant aucun rapport spécial avec une partie constituante vitelline déterminée.

Ces dernières se retrouvent plus nombreuses dans les ovules appartenant aux mêmes ovaires et dont l'épithélium folliculaire est stratifié.

Ces follicules ovariques correspondent à ceux signalés par Sainmont (36) comme en voie de dégénérescence dans les ovaires de jeunes chattes. L'auteur s'exprime dans les termes suivants : " Nous avons reconnu que tous les cordons médullaires transformés en follicules n'atteignent pas leur complet développement et disparaissent par atrésie, avant que les follicules primordiaux de la zone corticale ne se transforment en follicules de De Graaf ; les œufs que contiennent les cordons médullaires disparaissent par dégénérescence graisseuse. „

La couche vitellogène, dont la désagrégation est achevée, ne préside donc point directement à l'élaboration du vitellus nutritif.

Comme nous l'avons dit plus haut, c'est principalement dans les ovaires âgés de deux à trois mois que nous voyons apparaître les boules graisseuses. La structure des oocytes se rapproche déjà de celle des ovules d'un ovaire adulte, et la désagrégation de la couche vitellogène n'y est plus apparente. Toutefois dans les jeunes oocytes de la couche corticale, au sein desquels le deutoplasme apparaît, les mitochondries ne forment pas encore de couche périphérique épaisse.

D'après von Winiwarter et Sainmont (63) la graisse constitue dans ces oocytes, un symptôme de déchéance. Ils distinguent dans l'organogenèse de l'ovaire de chatte trois proliférations successives de l'épithélium germinatif. Les deux premières donnent naissance respectivement aux cordons médullaires et aux cordons corticaux ou de Pflüger (zone corticale primitive). Ces deux espèces de cordons, " ainsi que toutes les formations auxquelles ils donnent naissance (ovules, follicules

primordiaux, follicules de De Graaf développés) sont destinés à périr par dégénérescence graisseuse. „

Les oocytes dans lesquels nous venons de signaler la présence des boules graisseuses (ovaires de deux à trois mois), appartiennent à la seconde prolifération ou à la couche corticale primitive.

La troisième prolifération " aboutit à la formation de la zone corticale définitive de l'ovaire, à laquelle seule sera réservée la production des œufs définitifs. „

Il est certain que chez la chatte un grand nombre d'ovules, de follicules primordiaux et même de follicules de De Graaf dégénèrent dans les ovaires jeunes ; cette dégénérescence graisseuse continue dans l'ovaire adulte. Toutefois il est difficile d'admettre et de démontrer que tous les ovules et follicules, provenant de ces deux premières poussées, périssent indistinctement. Dans les ovaires de deux à trois mois, parmi les oocytes où apparaissent les boules graisseuses, un grand nombre ne montrent, à part la présence de ces dernières, aucun signe de dégénérescence.

A l'âge adulte, certains ovaires, probablement de jeunes femelles, ne montrent au niveau de la couche périphérique de la zone parenchymateuse que de petits ovules, à l'intérieur desquels il n'existe pas trace de graisse ; dans d'autres, appartenant à des femelles plus âgées, on trouve les boules graisseuses dans la majorité de ces éléments, qui possèdent les mêmes caractères qu'à l'âge de deux à trois mois. Nous les décrirons de la manière suivante :

Au moment où l'oocyte se charge de graisse, la vésicule germinative est excentrique. Parfois volumineuses et dans ce cas en petit nombre, les premières boules graisseuses, ordinairement arrondies, sont le plus souvent de moyenne grandeur (phot. 57, *b*, pl. XVI). Dans quelques oocytes, elles correspondent à des globules assez petits ou à des granulations (phot. 54, *b*). Leur nombre est variable ; à côté d'oocytes, renfermant quelques rares boules ordinairement de volume égal et relativement grand, distantes et irrégulièrement éparpillées dans le vitellus, on en

trouve d'autres où elles sont plus nombreuses, particulièrement dans le voisinage du noyau.

Dans ce cas, elles sont plus serrées au pôle nucléaire situé en regard du centre ovulaire, de façon à figurer par leur ensemble une espèce de croissant ou de calotte (phot. 57, *b*).

A l'âge adulte, dans l'oocyte entouré d'une rangée de cellules folliculaires cubiques, les boules de graisse existent toujours. A mesure que l'œuf évolue, elles augmentent en nombre et en volume, et sont éparpillées irrégulièrement dans toute l'étendue du vitellus.

Dans les oocytes se rapportant à des follicules de grandeur moyenne ou volumineux, dont l'antrum est ébauché ou bien entièrement constitué et dont la vésicule germinative est toujours plus ou moins centrale, on observe une disposition variable du deutoplasme, qui généralement se rattache à trois types différents :

a) Les boules graisseuses se disposent surtout dans la couche exoplasmique et respectent une zone endoplasmique entourant la vésicule germinative (fig. 30, pl. XIV, phot. 60, *b*, pl. XVI). Cette disposition existe surtout pour les œufs les plus jeunes de cette catégorie (œufs moyens).

b) Les boules graisseuses siègent uniformément dans toute l'étendue de l'ooplasme (phot. 61, *b*). Ce type est propre surtout aux ovules un peu plus avancés en développement que les précédents.

Dans ces deux cas les éléments graisseux peuvent être plus abondants à un pôle du vitellus (phot. 61, pl. XVII).

c) Dans les oocytes les plus avancés en évolution (fig. 32, 33, phot. 62, *b*, pl. XIV et XVII), elles sont généralement très nombreuses dans toute l'étendue d'une zone centrale, médullaire ou endoplasmique, correspondant à la plus grande partie du vitellus. Souvent cependant elles sont plus tassées et plus volumineuses au niveau d'une couche périnucléaire, tout en étant particulièrement nombreuses à un pôle du vitellus (fig. 32, 33, *b*). Il existe une couche exoplasmique moins riche en boules de graisse ; le volume de celles-ci diminue ordinairement à mesure qu'on se rapproche de la membrane vitelline. Les boules les plus péri-

phériques se présentent souvent sous forme de petites granulations, parfois groupées en amas (fig. 33, *b'*).

On peut se demander si cette accumulation de boules graisseuses, si nombreuses au centre du vitellus, n'intervient point, dans une certaine mesure, dans le refoulement de la vésicule germinative, dont le siège est toujours périphérique dans des œufs arrivés à la fin de la période d'accroissement.

A ces stades, les globules de graisse sont ordinairement arrondis; toutefois leur contour peut être anguleux, irrégulier (phot. 61, *b*).

Remarquons que dans tous ces ovules, il existe une zone corticale mitochondriale plastique (de O. Vander Stricht) excessivement étroite, où la graisse fait défaut et qui correspond à la mince couche périphérique corticale, décrite plus haut (fig. 31, 32, m.).

Dans les ovules arrivés à la fin de la période d'accroissement, à vésicule germinative périphérique et représentant les œufs normaux, destinés à être fécondés, tels qu'on les rencontre quelque temps avant la période du rut ou bien au début de cette période, les boules graisseuses sont plus nombreuses et plus volumineuses. En tenant compte de la disposition et surtout de la quantité du deutoplasme qu'ils renferment, on peut les diviser en deux groupes :

1° Dans un premier groupe (fig. 36, pl. XIV, phot. 66, 69, pl. XVII), la quantité de graisse est considérable : elle occupe toutes les profondeurs du cytoplasme, excepté une zone corticale mince mitochondriale. Elle représente la plus grande partie du vitellus en engendrant une couche médullaire, dont les boules graisseuses volumineuses et nombreuses compriment l'ooplasme voisin, chargé des formations mitochondriales décrites plus haut.

Les globules graisseux sont toujours plus abondants et plus nombreux à un pôle du vitellus, de sorte qu'on peut diviser l'œuf en deux moitiés, l'une plus riche en graisse que l'autre. Il existe dès lors une véritable polarité, parfois déjà plus ou moins visible antérieurement, mais très manifeste dans les ovules en question, car la graisse ou le vitellus nutritif est bien

plus abondant au centre de l'ovule et au pôle deutoplasmique.

Sous la zone corticale plastique, il existe souvent une bande vitelline relativement épaisse, parsemée de petites granulations graisseuses, parfois groupées en amas.

Le siège de la vésicule germinative de ces ovules est caractéristique ; il correspond à la périphérie du vitellus. Elle se trouve sous la zone corticale plastique, à peu près au niveau d'une droite séparant les deux moitiés vitellines, mais tantôt (fig. 36), elle est en rapport plus direct avec la masse deutoplasmique, tantôt (phot. 69), elle est surtout circonscrite par le vitellus plus pauvre en boules graisseuses.

2°) Dans le second groupe d'ovules (fig. 34, 35, pl. XIV) arrivés au même stade d'accroissement et propres aussi à la période du rut, la graisse est relativement beaucoup moins abondante ; les globules engendrent un noyau deutoplasmique central, refoulant la vésicule germinative à la surface du vitellus.

Autour de cette couche médullaire existe une zone exoplasmique large, dépourvue ou en grande partie exempte de vitellus nutritif, excepté au niveau de sa surface, de sa partie périphérique, où existent généralement une multitude de petites granulations graisseuses (*b'*).

En dehors de celles-ci et en rapport direct avec la membrane vitelline, existe la mince bordure mitochondriale, décrite plus haut. Toutefois on peut, mais dans de rares cas, trouver de petites granulations graisseuses au sein de cette dernière (fig. 35, *b'*).

Il résulte de ce qui précède, qu'à la fin de la période d'accroissement, on peut distinguer normalement deux espèces d'ovules, prêts à la maturation et à l'ovulation : des œufs riches en deutoplasme, d'autres notablement plus pauvres.

On verra plus tard, qu'à tous les stades ultérieurs, jusqu'à une segmentation avancée, ces deux catégories d'œufs se retrouvent. Cette différence dans la quantité de graisse, pour des ovules arrivés au même stade de leur évolution, nous paraît avoir une importance capitale dans la détermination du sexe. Nous venons de prendre connaissance de quelques travaux

intéressants d'A. Russo (64, 65) sur l'œuf de lapine. Cet auteur distingue également deux espèces d'ovules : " due specie di ova prossime alla maturita, di cui alcune erano ricche di materiali deutoplasmici, mentre altre ne erano affato prive. „. Parmi tous les œufs qui arrivent à maturité et qui sont fécondés, le plus grand nombre est privé de globules vitellins.

D'autre part, par l'ingestion ou par des injections sous-cutanées ou intrapéritonéales d'une solution de lécithine de Merck, le développement du deutoplasme progresse plus rapidement ; le nombre de globules vitellins augmente dans l'ooplasme, et leur composition chimique semble se modifier.

Par le même traitement la production d'individus femelles s'accroît notablement. A l'état normal le nombre d'individus mâles est toujours supérieur à celui des femelles, les premiers étant sensiblement dans la proportion de 62 pour cent. Par le traitement à la lécithine, cette proportion se réduit à 23 %. Cinquante grossesses donnent 220 mâles et 138 femelles : après traitement à la lécithine, le même nombre de grossesses donne 111 mâles et 229 femelles. Tenant compte, d'une part, des modifications apportées dans le deutoplasme sous l'influence de la lécithine, d'autre part, de celles apportées dans la production d'individus femelles par le même traitement, l'auteur tire les conclusions suivantes :

" La penetrazione dello spermatozoo in ova di diversa costituzione e la causa principale della determinazione del sesso; poiche, se esso penetra in ova riche di materiali deutoplasmici si ha una maggiore probabilita di avere una ♀, se penetra in quelle che ne sono deficienti si avra un ♂. „

A la suite de ces considérations intéressantes, nous sommes porté à croire que, chez la chatte, il existe également des rapports étroits entre le deutoplasme et le sexe, et que des deux catégories d'œufs, les uns sont destinés à produire des individus du sexe mâle, les autres des individus du sexe féminin. La graisse constituant le deutoplasme de l'œuf de chatte, comme les globules vitellins celui de l'œuf de lapine, par analogie on peut admettre que les œufs riches en éléments graisseux sont destinés à produire des individus du sexe féminin.

CHAPITRE VI.

Maturation.

En entamant ce chapitre, nous n'avons pas la prétention de pouvoir fournir tous les détails que comporte une étude complète de la maturation de l'œuf de chatte. Le nombre de préparations que nous avons à notre disposition pour une étude aussi compliquée, est très restreint et insuffisant pour pouvoir fournir des données précises, quant aux mitoses de maturation. Il existera donc dans cette partie des lacunes, que nous nous proposons de combler ultérieurement ; d'ailleurs notre but est surtout de poursuivre la vitellogenèse tant dans l'œuf extraovarique que dans l'œuf intraovarique.

A. — Aperçu bibliographique.

Des fuseaux de maturation normaux ont été décrits dans l'œuf ovarique des mammifères, surtout des souris blanches, par Holl (18, 19), qui décrit le premier fuseau de direction, par Tafani (44) qui représente fidèlement le premier et le second fuseau.

Sobotta (41), Lams et Doorme (26), L. Gerlach (14) et Kirkham (24) donnent une description plus détaillée de chaque figure de maturation. Conformément aux résultats obtenus par Sobotta (41), Gerlach (14), Kirkham (24) pour l'œuf de souris blanche, et conformément aux conclusions de Rubaschkin (35) à la suite de ses études sur la maturation de l'œuf de cobaye, la figure chromatique du premier fuseau est constituée de segments allongés, épais, plus ou moins parallèles à l'axe du fuseau, de configuration assez variable. Celle du second fuseau, qu'on peut distinguer facilement des chromosomes du premier, est formée de segments beaucoup plus petits, de petits bâtonnets ou d'éléments elliptiques, à axe parallèle à celui du fuseau. Rubaschkin ne décrit guère les segments chromatiques du second fuseau de

cobaye ; Gerlach les considère comme représentant, chez la souris, des dyades.

O. Van der Stricht (55) donne des détails très précis, au sujet de la forme et du volume des segments chromatiques du premier et du second fuseau de maturation chez la chauve-souris. " Les segments nucléiniens du premier fuseau sont allongés, bâtonoïdes, à axe parallèle à celui du fuseau achromatique, et montrent généralement des configurations spéciales dénotant leur origine annulaire „. Chaque segment chromatique du second fuseau est beaucoup plus court ; il est double et est " en réalité formé de deux petits tronçons bâtonoïdes ou à peu près arrondis, répartis de part et d'autre du plan équatorial de la figure chromatique. „

Des centrosomes ont été signalés au sommet des 1er et 2d fuseaux par Holl (18,19), par Lams et Doorme (26), par O. Van der Stricht (55), par Gerlach (14) et par Kirkham (24). Sobotta et Rubaschkin nient la présence de tout corpuscule central.

En général tous les auteurs sont d'accord pour admettre que le premier fuseau est plus volumineux que le second, et qu'il siège à une plus grande distance de la membrane vitelline.

A part Rubaschkin pour l'œuf de cobaye, et Lams et Doorme pour les ovules de cobaye et de souris blanche, les auteurs ne signalent guère aucun détail bien intéressant au sujet de la vitellogenèse au stade de la maturation.

Des vacuoles claires peuvent apparaître, d'après Rubaschkin, (35) dans le vitellus de l'œuf de cobaye avant la formation du premier fuseau de direction. Au stade de la seconde mitose de maturation, le vitellus est formé de deux couches, une centrale volumineuse, vacuolaire et une corticale mince, granuleuse, dans laquelle siège le second fuseau de maturation.

Lams et Doorme résument de la manière suivante leurs résultats, au sujet de la vitellogenèse de l'œuf de cobaye (page 333) : " Quand la vésicule germinative existe encore, située excentriquement, dans l'ovule, les boules graisseuses sont réparties uniformément dans le vitellus „. " Au stade du premier fuseau de maturation, les éléments graisseux s'accu-

mulent vers le pôle de l'œuf opposé à la figure de division. „.

. " Lorsque l'ovule a expulsé le premier globule polaire, il possède une polarité manifeste : il présente une zone plastique, comprenant la moitié de l'œuf, située au pôle d'expulsion du globule polaire, et une zone deutoplasmique, constituée par la moitié de l'œuf opposée, contenant toutes les boules graisseuses „.

Mais plus tard cette polarité change ; au stade du second fuseau, les boules graisseuses envahissent le pôle plastique primitif et après l'expulsion du second globule polaire, dans l'oviducte, cette moitié du vitellus attenante aux globules polaires s'est transformée en pôle deutoplasmique et les deux pronucléus se réunissent au sein de la moitié opposée, devenue plastique.

Antérieurement à Lams et Doorme, O. Vander Stricht (54) a décrit un changement de polarité à peu près semblable pour l'œuf de chauve-souris (*V. noctula*).

B. — Œuf au stade du 1er fuseau de maturation.

Les œufs normaux au stade du premier fuseau de maturation, que nous avons mentionnés dans notre tableau, sont au nombre de 7 et fournis par la chatte I (genèse du 1er fuseau) et la chatte X.

a) *Premier fuseau de maturation.*

Au stade de la disparition de la membrane nucléaire, c'est-à-dire lors de la genèse du premier fuseau, on constate dans l'aire nucléaire claire, encore apparente, l'existence de plusieurs amas chromatiques de volume égal et plus ou moins sphériques. Quelques-uns de ces segments paraissent étranglés vers leur milieu, de manière à figurer une masse arrondie, irrégulière, formée de deux amas nucléiniens fusionnés. On en compte un minimum de 12 sur la série des coupes. Ils sont rapprochés les uns des autres et présentent une tendance à se disposer en une plaque, comme le montre la fig. 37. La partie achromatique n'est pas encore constituée ; la membrane nucléaire a disparu (fig. 37, pl. XIV).

Quand le premier fuseau est formé (fig. 38), on retrouve les amas nucléiniens, plus ou moins arrondis, disposés en une plaque équatoriale. En examinant ces segments avec beaucoup d'attention, on constate dans certains œufs, probablement les moins avancés en développement, l'existence de boules arrondies plus nettement étranglées vers leur milieu, de manière à figurer un bâtonnet épais, mais double, formé de deux segments ou de deux bâtonnets courts encore fusionnés. A un stade un peu plus avancé, quand la figure achromatique est entièrement constituée, la plupart de ces éléments sont manifestement doubles, formés de deux bâtonnets courts et épais accolés, dont l'axe est dirigé parfois parallèlement à celui du fuseau, mais le plus souvent perpendiculairement par rapport à ce dernier. De sorte que, lors de la métacinèse, dont nous retrouvons sur certaines préparations le premier début, chacun des deux bâtonnets accolés paraît migrer vers un des deux pôles de la figure achromatique. Des filaments achromatiques, nettement apparents, les réunissent aux deux pôles. A ce niveau on peut constater, sur des préparations choisies, un corpuscule central (fig. 38).

Chaque moitié du fuseau achromatique est formée d'un grand nombre de filaments relativement épais, insérés sur les segments nucléiniens ; les plus périphériques, libres, s'entrecroisent latéralement avec ceux du côté opposé (fig. 38). Autour de chaque pôle existe un aster, à filaments très courts, disposés radiairement autour du centrosome, visible ou bien non apparent. De rares filaments bipolaires réunissent les deux sommets du fuseau, sans s'insérer sur les segments chromatiques.

La figure mitosique est entourée d'une aréole claire.

Le siège du premier fuseau, au sein du vitellus, correspond à celui de la vésicule germinative à la fin du stade d'accroissement ; il varie donc légèrement. Dans la fig. 37 il occupe le pôle du vitellus où le deutoplasme est surtout abondant. Dans la fig. 38, il siège plus profondément, à peu près entre les deux moitiés de l'ooplasme, l'une plus riche en boules graisseuses, l'autre à deutoplasme plus clairsemé.

Dans tous les ovules examinés, l'axe du premier fuseau est manifestement perpendiculaire à la surface de l'ovule.

Il résulte de cette description, que le premier fuseau de direction de l'œuf de la chatte est caractérisé par la forme et le volume des segments chromatiques, beaucoup plus courts que ceux signalés chez d'autres mammifères. Ils sont représentés par deux bâtonnets accolés. La figure achromatique, formée de deux petits fuseaux relativement courts, est plus longue et plus large que celle du second.

En général le premier fuseau siège plus profondément que le second.

b) *Vitellus.*

Dans l'ovule à la fin du stade d'accroissement, on a vu que la quantité de graisse est très variable, parfois très abondante, parfois relativement beaucoup moins abondante, mais qu'il existe toujours une véritable répartition polaire de cette dernière, au point de vue du nombre des boules graisseuses accumulées dans une moitié du vitellus.

Au stade du 1er fuseau de maturation, l'œuf présente absolument les mêmes caractères. Ainsi dans la fig. 38 (Pl. XIV), les boules graisseuses, qui ont été dissoutes dans l'essence de térébenthine, occupent à peu près toute l'étendue du vitellus, tout en étant beaucoup plus serrées dans la moitié de l'œuf, que nous avons appelée pôle deutoplasmique. [La coupe précédant celle représentée dans le dessin, recueillie sur une lamelle à part, n'ayant pas été traitée par l'essence de térébenthine, montre cette particularité avec beaucoup plus de netteté encore.]

Dans la fig. 37, elles sont moins abondantes, mais surtout accumulées au pôle où se forme le premier fuseau (*d*).

La quantité de graisse étant si variable d'après les œufs, il est difficile de dire si, pendant la période de maturation, elle augmente encore en abondance. Nous sommes toutefois porté à croire que le vitellus nutritif continue à se former, mais dans des proportions très faibles, attendu que la période de maturation est très courte et évolue en quelques heures, comme nous l'avons dit plus haut.

Quant aux autres parties constituantes du vitellus, il persiste toujours une couche corticale mince, où les mitochondries sont particulièrement serrées, et exempte de granulations graisseuses.

La zone deutoplasmique centrale, à boules très volumineuses, est généralement séparée de la corticale par une couche intermédiaire étroite, où les granulations sont plus petites. Des formations mitochondriales sont réparties entre les boules et les granulations graisseuses.

Le corps énigmatique, unique ou double, se retrouve à la périphérie du vitellus, au sein de la couche corticale plastique (fig. 38, *ce*). Enfin rappelons que nous avons signalé plus haut, la persistance de corps vitellins multiples pendant la période de maturation.

C. Œuf au stade du second fuseau de maturation.

Dans notre tableau nous avons signalé 14 ovules intraovariques et deux ovules extraovariques, au stade du second fuseau de maturation.

Au moment de la formation du second fuseau, le disque proligère volumineux du follicule mûr présente en général un aspect tout à fait caractéristique. Les cellules épithéliales nagent dans une sorte de gangue intercellulaire très abondante ; elles sont donc très distantes, comme dissociées. Leurs contours sont arrondis ; elles sont entourées d'une membrane très manifeste. Leur cytoplasme est bourré de nombreuses granulations graisseuses, solubles dans l'essence de térébenthine. Leur noyau excentrique est généralement arrondi et renferme un nucléole nucléinien. Cette présence de granulations graisseuses dans l'épithélium du disque proligère n'est point un signe de dégénérescence, ni d'atrésie du follicule. Des granulations semblables existent même dans la plupart des cellules de l'épithélium folliculaire proprement dit, ainsi que dans les éléments de la zona coronata entourant la zone pellucide. Ces derniers semblent également dissociés, mais toujours étirés, très allongés. Le corps cellulaire siège à une grande distance de l'enveloppe

pellucide, à laquelle il est relié par un prolongement relativement épais, qui part d'une couche endoplasmique périnucléaire foncée, compacte, circonscrivant une sphère attractive ou centrosome à un ou deux corpuscules centraux (photo. 77). Chaque prolongement traverse très manifestement la zone pellucide pour atteindre l'espace périvitellin, séparant la membrane vitelline de cette dernière enveloppe, pour s'y terminer par un petit renflement. Nous possédons plusieurs préparations très démonstratives, montrant la zone pellucide sectionnée tangentiellement et trouée, parsemée de petits pertuis, qui renferment la section d'un prolongement perforant. Ces images se rapportent non seulement à l'œuf ovarique, mais même à l'œuf extraovarique, libre dans l'oviducte et entouré ou non de cellules épithéliales. Quand l'œuf est au stade de la segmentation, on aperçoit encore ces trous et souvent leur contenu, à l'intérieur de la zone pellucide. Sous ce rapport l'ovule de chatte paraît représenter un matériel exceptionnel.

Tout follicule de De Graaf qui ne présente point cette structure si curieuse du disque proligère, au moment de la déhiscence folliculaire, doit être considéré comme anormal et destiné à l'atrésie.

a) *Premier globule polaire.* — La première mitose de maturation donne naissance au premier globule polaire. Celui-ci représente une petite masse cytoplasmique, entourée d'une membrane propre et renfermant quelques petits amas chromatiques distincts (fig. 41. Pl. XV ; phot. 73. Pl. XVII), pouvant se fusionner en amas plus compacts, quelquefois en un amas unique (phot. 77, 79 Pl. XVIII). Il est ordinairement très petit ; il déprime généralement le vitellus et se trouve dans une encoche vitelline, comprise entre la membrane de l'œuf et la zone pellucide.

Dans tous les œufs intraovariques, au stade du second fuseau de direction, il existe dans le voisinage de ce dernier.

Parfois arrondi ou ovalaire, d'autres fois il est très allongé, étiré, et dans un œuf intraovarique (phot. 73) il est manifestement divisé en deux moitiés égales, l'une renfermant un amas nucléinien volumineux, homogène, l'autre étant parsemée de

plusieurs tronçons chromatiques. Ces deux globules polaires dérivent évidemment d'une division du premier.

b) *Second fuseau de maturation.* — Le second fuseau de maturation est notablement plus petit que le premier. Il siège toujours tout à la périphérie du vitellus.

La partie chromatique de cette figure forme une plaque nucléaire plus mince, constituée de plusieurs tronçons nucléiniens très serrés, notablement plus petits que ceux du premier fuseau. Ils sont manifestement doubles, mais au lieu d'être formés de deux bâtonnets courts, épais, accolés, ils sont représentés par deux grains ou petites boules arrondies ou bien elliptiques. La fente séparant ces dernières est parallèle ou bien perpendiculaire à l'axe de la figure achromatique.

Lors de la métacinèse, dont on voit quelques étapes pour certains segments chromatiques, chaque moitié du tronçon chromatique migre vers un des deux pôles du fuseau.

Nous ne discuterons point ici la signification de la 1re et de la 2e divisions de maturation. Le matériel étudié n'est guère favorable pour émettre une opinion à ce sujet. Les segments chromatiques sont trop réduits et l'on peut s'estimer heureux de retrouver, dans le premier et dans le second fuseau, des images semblables à celles décrites pour d'autres œufs et des caractères différentiels entre la seconde et la première mitose de maturation.

La partie achromatique du second fuseau est extrêmement réduite ; elle est représentée par deux petits cônes, striés, dont la base est appliquée sur l'étoile-mère et le sommet dirigé du côté opposé. Sur la photographie 72, pl. XVII, on aperçoit le petit cône superficiel, au sommet duquel existe un petit corpuscule central, coloré en bleu, plus distinct sur la préparation que sur la photographie. Sur une autre préparation, on constate la présence d'un corpuscule semblable, au niveau du pôle profond de la figure achromatique.

Nous croyons donc devoir admettre l'existence de corpuscules centraux aux pôles du second fuseau de direction, quoique sur les autres préparations on ne constate ni centrosome, ni

même la présence d'une figure achromatique. Ces parties constituantes sont tellement délicates et petites, qu'il faut des préparations choisies, très bien réussies, pour pouvoir en apercevoir des traces.

Tous les fuseaux de la seconde mitose de maturation de l'ovule de chatte sont perpendiculaires à la surface du vitellus.

c) *Vitellus.* — Le vitellus des œufs, au stade du second fuseau, se comporte d'une manière différente d'après les ovules. Il faut distinguer ici, de même que lors de la première mitose de maturation, des œufs à deutoplasme graisseux peu abondant et d'autres à vitellus nutritif graisseux très abondant.

Dans l'œuf représenté (photogr. 72), les boules graisseuses sont relativement peu nombreuses; toutefois elles engendrent par leur ensemble une couche deutoplasmique volumineuse, très bien visible sur la coupe suivante (phot. 73), non traitée par l'essence de térébenthine, et manifestement excentrique, plus rapprochée du second fuseau que du pôle opposé.

Dans un second œuf de la même mère (œuf 8 du tableau), ce deutoplasme est encore moins abondant. Les boules graisseuses sont rares, mais toujours plus nombreuses du côté du second fuseau de direction.

Dans un troisième œuf d'une autre mère (œuf 4 du tableau), fixé comme les précédents par le procédé de Benda, le vitellus nutritif est excessivement abondant. Les boules volumineuses, toutes très serrées du côté du pôle deutoplasmique, dans le voisinage du second fuseau, sont encore très nombreuses partout ailleurs, mais elles sont notablement plus petites et représentent de petites granulations du côté du pôle opposé.

Autour du vitellus nutritif existe une zone, d'étendue variable, intermédiaire, très large pour les œufs pauvres en deutoplasme, plus mince pour les autres, dans laquelle les granulations graisseuses sont, ou bien beaucoup plus fines, ou bien beaucoup plus rares (phot. 73).

Sous la membrane vitelline existe une couche corticale plastique très étroite, formée par des mitochondries et des chondriomites très serrés. En général, elle est un peu plus épaisse et plus accentuée qu'aux stades précédents.

Ces microsomes spécifiques sont toujours éparpillés dans les deux couches centrale et intermédiaire, au sein de l'ooplasme séparant les boules graisseuses.

Le corps énigmatique existe toujours, d'une manière constante, au sein de la zone corticale plastique avec ses caractères signalés plus haut (phot. 77, ce.).

Les caractères signalés pour l'œuf intraovarique au stade du second fuseau de maturation, se rapportent aussi aux ovules extraovariques, tombés dans l'oviducte après la rupture du follicule de De Graaf et dont nous avons pu étudier deux exemplaires.

CHAPITRE VII.

Fécondation.

A. Bibliographie de l'œuf au stade de la fécondation.

Nous nous contenterons de donner quelques détails intéressants au sujet de la structure du vitellus et sur lesquels les auteurs ont attiré notre attention, en étudiant l'œuf d'autres mammifères pendant cette période de son évolution.

Tafani, Sobotta, Gerlach et Kirckham ne signalent guère de transformations au sein du vitellus.

Ed. Van Beneden a toujours décrit, de la manière la plus précise, la structure des œufs dont il a fait l'étude.

Déjà en 1875 (46) en examinant les ovules extraits de l'oviducte de V. Murinus, V. Mystacinus, V. Dasycnemus et V. Daubentonii, il signale l'existence de trois couches vitellines, une superficielle presque homogène, une intermédiaire irrégulièrement granuleuse et opaque et une centrale beaucoup plus claire, au milieu de laquelle se rapprochent les deux pronucléus.

En 1880 (47), il attire encore l'attention sur la polarité évidente de l'œuf, et la même année, Van Beneden et Julin (49) signalent la disposition excentrique de la zone claire et la présence d'éléments deutoplasmiques nombreux, au sein de la couche intermédiaire d'un œuf ovarique de V. Murinus au stade des deux pronucléus.

Des couches vitellines plus ou moins semblables ont été décrites par Rein (34) pour l'œuf extraovarique de lapine et par Nagel (30) pour l'œuf ovarique de la femme, dont O. Van der Stricht a fait une étude plus détaillée.

Heape (16) observe dans l'ovule de taupe, avant l'expulsion des deux globules polaires, une couche vitelline centrale, granuleuse et une mince zone corticale claire, non granuleuse.

O. Vander Stricht (54, 55), en examinant l'œuf de chauve-souris (V. noctula), constate que vers la fin de la période de

maturation, le vitellus change de polarité. Le pôle vitellin plastique, où se détachent les deux globules polaires, devient de plus en plus riche en deutoplasme vacuolaire et le pôle primitivement deutoplasmique, opposé, devient plastique. Pendant la période de la fécondation, les deux pronucléus excentriques se réunissent dans la moitié du vitellus formateur, opposée à celle qui est riche en vitellus nutritif et où siegent les deux globules polaires.

Rubaschkin (35), Lams et Doorme (26) constatent une polarité semblable pour l'œuf de cobaye.

Dans la plupart des œufs, les auteurs signalent la réunion des deux noyaux, mâle et femelle, vers le centre du vitellus.

O. Van der Stricht (54), pour l'œuf de chauve-souris, Rubaschkin, Lams et Doorme, pour celui de cobaye, les constatent à la fin de la période de la fécondation vers le milieu de la couche plastique de l'œuf.

L'œuf de chatte, dont le premier fuseau de maturation a été figuré par von Ebner, n'a guère été étudié. Bonnet (10) représente trois figures intéressantes, se rapportant à des œufs extraits de l'oviducte. Il décrit trois ovules trouvés dans l'oviducte : un premier, d'une chatte non fécondée, dans le tiers utérin de la trompe, montrant sous la zone pellucide, à chaque pôle de l'œuf, un corpuscule qu'il considère comme un globule polaire. Il est porté à croire qu'il s'agit dans ce cas " um eine nachträgliche Verschiebung der beiden Teilstücke der zuerst abgeschnürten Polzelle nach unten „. Il ne peut découvrir dans le vitellus aucune trace de noyau.

Un second œuf de chatte, fécondée, siège dans l'oviducte à 1 $^1/_2$ cm. de l'orifice utérin ; il est un peu plus volumineux et entouré de spermatozoïdes. Il montre deux globules polaires rapprochés et dans leur voisinage un noyau relativement petit ; un autre noyau, plus volumineux, siège à une plus grande distance. Ce sont évidemment, le premier, le noyau ovulaire, et le second, le noyau spermatique.

Un troisième œuf d'une chatte fécondée, contenu dans le segment moyen de l'oviducte, est en voie de segmentation (9 blastomères). Remarquons que les deux premiers œufs ont été

trouvés dans le segment utérin de l'oviducte et que le troisième est contenu dans le segment moyen. Cela confirme nos données, exposées plus haut, au sujet du passage de l'œuf à travers l'oviducte.

Conformément à ses trois figures, Bonnet signale, dans le vitellus de ces œufs, des granulations très fines et " sehr zahlreichen, regelmässig verteilten, kugeligen, stark lichtbrechenden Dotterelementen „. Dans le but de contrôler la nature graisseuse de ces éléments, il les soumet à une goutte d'acide osmique à 1 %, " die aber nur eine dunklere Farbung der stark glänzenden Dotterelementen hervorrief „. A en juger par cette phrase, on est porté à croire que l'auteur n'a point reconnu leur nature graisseuse. Il ne donne d'ailleurs aucun renseignement plus précis, au sujet de leur composition chimique, ni de leur répartition.

B. Étude de la fécondation chez la chatte.

a) *Œuf au début de la fécondation.* — A l'intérieur de l'oviducte, l'œuf au stade du second fuseau de maturation subit une nouvelle division inégale, ayant pour résultat l'expulsion du second globule polaire. Ce dernier, rapproché ordinairement du premier globule polaire, s'en distingue souvent par la présence d'un reste de la figure mitosique achromatique, qui reste adhérante aux chromosomes entrant dans sa constitution, et par son volume plus grand (fig. 41, pl. XV, 2e gl.).

La moitié de la partie chromatique de la seconde mitose de maturation s'élimine avec le second globule polaire; l'autre moitié reste à l'intérieur de l'ovule et constitue l'ébauche du pronucléus femelle. Au début, celui-ci est très petit et siège dans le voisinage de l'endroit d'expulsion des deux globules polaires (fig. 39, ♀).

A ce stade, la tête du spermatozoïde se retrouve dans l'œuf à des endroits variables et se distingue parfois difficilement des corps énigmatiques. Elle forme l'ébauche du pronucléus mâle (fig. 39, 40, 41, pl. XV. ♂).

Passant sous silence l'étude détaillée de ces formations, c'est-à-dire du second globule polaire et des deux pronucléus

ébauchés, nous nous occuperons de la partie qui nous intéresse le plus : le vitellus.

A ce stade d'évolution de l'œuf, c'est-à-dire pendant que s'accomplissent les phénomènes du début de la fécondation, tels que la pénétration du spermatozoïde et la genèse des pronucléus, la polarité de l'ovule persiste d'une façon incontestable, mais elle varie avec l'endroit de détachement des deux globules polaires. Ces derniers étant pris comme point de départ, la disposition des éléments graisseux, dont la quantité varie d'un œuf à l'autre, peut se rapporter à trois types différents :

1) Les boules graisseuses sont accumulées au pôle d'expulsion des deux globules polaires (fig. 40). L'œuf présente alors une zone deutoplasmique voisine des globules polaires au niveau du pôle végétatif (*d*), et une zone moins riche en vitellus nutritif et plus riche en vitellus formateur, qu'on peut appeler zone plastique (fig. 40, pl. XV), du côté du pôle plastique ou animal.

On peut rencontrer dans la zone intermédiaire du vitellus, sous-jacente à la couche mitochondriale, de petites granulations graisseuses, signalées déjà pour les œufs aux stades précédents (*b'*).

Cette disposition du deutoplasme de l'œuf de chatte, représentée dans la fig. 40, se rapportant au type à vitellus nutritif peu abondant, est tout-à-fait identique à celle décrite à ce stade par O. Vander Stricht pour la chauve-souris (V. noctula) et par Lams et Doorme pour le cobaye (comparez la fig. 41 de Lams et Doorme à notre fig. 40).

2) La plus grande quantité de vitellus plastique siège dans le voisinage des globules polaires ; le deutoplasme occupe surtout la moitié opposée de l'œuf. Cette disposition est inverse de la précédente. Les globules polaires sont donc voisins du pôle plastique (*p*) ; le pôle opposé est deutoplasmique (*d*) et renferme le plus grand nombre de boules graisseuses (fig. 41, 42. Pl. XV)

Cette disposition deutoplasmique rappelle celle décrite par Rubaschkin, Lams et Doorme pour l'œuf de cobaye au stade de la maturation ovulaire. (Comparez les fig. 37 et 38 de Lams et Doorme avec notre fig. 41).

3) Les boules graisseuses sont plus abondantes dans une des deux moitiés de l'œuf, du côté du pôle végétatif ; au pôle opposé, du côté du pôle plastique, elles sont moins abondantes (fig. 39, *d* et *p*). Les globules polaires occupent un siège intermédiaire, c'est-à-dire un endroit de la périphérie du vitellus, à égale distance du pôle deutoplasmique et du pôle plastique.

Cette disposition du vitellus nutritif n'a guère été signalée pour l'œuf d'aucun mammifère. Si on tient compte de la possibilité d'un déplacement des deux globules polaires, on serait tenté de n'attacher aucune importance à une orientation deutoplasmique pareille, car elle se laisserait ramener facilement à l'un des deux types précédents. Toutefois cette répartition des boules graisseuses, observée au stade de la maturation et même à la fin de la période de l'accroissement, pourrait se maintenir au début de la fécondation. Nous n'avons pas le droit de nier ce fait, car certaines images tendent à le prouver.

Cette différence de polarité, par rapport aux globules polaires, s'explique facilement, sans qu'on doive admettre un changement de position du deutoplasme, si on se souvient de la disposition des éléments graisseux par rapport à la vésicule germinative à la fin du stade d'accroissement et de la polarité lors de la période de maturation.

Nous avons dit que la vésicule germinative périphérique siège à peu près au niveau d'une droite, séparant la moitié vitelline riche en boules graisseuses, de la moitié vitelline moins riche, mais que tantôt elle est en rapport plus direct avec la masse deutoplasmique, tantôt elle est surtout circonscrite par le vitellus pauvre en boules graisseuses. Comme on le voit, les globules polaires siègent, approximativement, à l'endroit d'emplacement de la vésicule germinative, variable, nous le répétons, d'après les œufs. On peut donc dire que la polarité primitive, observée dans l'œuf ovarique à la fin du stade d'accroissement, se maintient à peu près intacte, pendant toute l'évolution de la maturation et le début de la fécondation et que le deutoplasme ne subit aucun déplacement notable.

Les formations mitochondriales persistent, à ce stade, à l'intérieur du vitellus entre les boules graisseuses et sur tout au sein

du vitellus plastique, en grande partie dépourvu de ces globules (fig. 41 et 42. Pl. XV). Elles forment une bordure mitochondriale corticale mince sous la membrane vitelline, au sein de laquelle les grains deutoplasmiques sont plus rares ou font défaut. Quand les globules polaires existent au pôle plastique ou en sont rapprochés (fig. 39, 41), la zone corticale de vitellus formateur s'élargit très notablement dans leur voisinage.

Les corps énigmatiques, souvent au nombre de deux, se retrouvent à la périphérie du vitellus, avec tous leurs caractères décrits plus haut. (fig. 40, 41).

b) *Œuf au stade des deux pronucléus.*

Les deux pronucléus, au début plus ou moins périphériques, petits et inégaux (le pronucléus femelle étant toujours plus grand et plus avancé en développement), se développent et se rapprochent de la région plus centrale du vitellus. Aussi longtemps qu'ils sont relativement petits, ils sont très chromatiques et très colorables ; à mesure qu'ils augmentent en volume, il apparaît une membrane nucléaire autour d'un suc clair, tenant en suspension des grains nucléiniens ou plus généralement des tronçons ou des amas multiples de nucléine.

Quand ils sont relativement volumineux et bien constitués, ils se présentent sous forme de deux noyaux identiques, de volume égal et renfermant de nombreuses boules chromatiques (fig. 43, 44. Pl. XV, phot. 84, 86. Pl. XVIII).

A ce moment ils sont rapprochés l'un de l'autre au sein d'une zone vitelline plastique, toujours légèrement excentrique, pauvre en grosses boules graisseuses, mais parsemée généralement d'innombrables petites granulations graisseuses (fig 43, *b'*).

Entre ces dernières, il existe des mitochondries non moins nombreuses, bien visibles sur les préparations traitées par l'essence de térébenthine (qui dissout la graisse). La couche corticale plastique mitochondriale peut être entièrement effacée par l'envahissement de boules graisseuses volumineuses, attenantes à la membrane vitelline (fig. 43, 44).

Nous avons eu l'occasion d'observer, dans un œuf fécondé, l'existence de deux pronucléus complètement constitués et dont

le rapprochement au sein du vitellus formateur ne s'était pas encore effectué. Les photographies 78, 79, 80, 81, 82, pl. XVIII, reproduisent cinq images de la série des coupes de cet œuf, au nombre de 19, et représentent respectivement les 3me, 7me, 9me, 11me et 16me coupes. Elles donnent une idée très nette du siège des pronucléus par rapport à d'autres parties constituantes de l'œuf. Une des premières coupes (photogr. 78) ainsi qu'une des dernières (photogr. 82) montrent un corps énigmatique très joli, renfermant un corpuscule central et situé à la périphérie du vitellus. Ces deux corps énigmatiques se trouvent aux extrémités d'un des plus grands diamètres de l'œuf. Les deux globules polaires (photogr. 79, 80) existent à un endroit de la périphérie du vitellus, situé à égale distance du pôle deutoplasmique (*d*) et du pôle plastique (*p*).

Le segment deutoplasmique (*d*) se prolonge par une bande de grosses boules graisseuses au sein du vitellus de l'œuf et divise pour ainsi dire la moitié de l'œuf, pauvre en boules graisseuses, en deux segments plastiques qui renferment respectivement le pronucléus mâle (♂) et le pronucléus femelle (♀). Ces derniers siègent donc à une grande distance l'un de l'autre, dans la zone corticale du vitellus (phot. 80, 81, 82).

L'œuf présente encore une particularité intéressante : sur une des coupes (non représentée) le pronucléus ♀ montre un aspect nettement lobé ; cet état lobé se retrouve plus fréquemment, comme nous le verrons plus loin, lors de la segmentation de l'œuf. Enfin les mitochondries (*m*) sont bien visibles et la zone pellucide est parsemée de nombreux spermatozoïdes (*sp*).

Si, à un moment donné de la maturation et de la fécondation ovulaires, l'augmentation en quantité de deutoplasme semble avoir subi un arrêt, vers la fin de la période de fécondation, elle paraît s'accentuer manifestement, surtout pour les œufs du type pauvre en vitellus nutritif. L'œuf est alors formé de deux moitiés vitellines, l'une deutoplasmique (*d*) où les boules graisseuses sont très nombreuses, très serrées, séparées par une charpente cytoplasmique parsemée de quelques mitochondries. L'autre moitié, plastique (*p*), est plus petite, car elle est circonscrite en grande partie par la première, qui tend à entourer la seconde

plus ou moins complètement par une zone relativement étroite, où les boules graisseuses sont moins nombreuses et toujours incontestablement moins volumineuses, séparées par une charpente cytoplasmique plus riche en mitochondries et en chondriomites (fig. 43, 44, phot. 83, 84, 86).

Dès ce moment, on peut dire que le processus de la vitellogenèse est en grande partie achevé, en ce sens que les régions deutoplasmique et plastique définitives sont toujours bien indiquées. Le premier fuseau de segmentation, que nous n'avons malheureusement pas pu étudier, doit apparaître au milieu de cette région excentrique plastique de l'ovule, car les noyaux des deux premiers blastomères y siègent toujours.

Il existe donc, comme aux stades précédents, une moitié ovulaire où les éléments graisseux sont amassés en nombre considérable du côté du véritable pôle deutoplasmique (*d*), et une moitié où ils sont en quantité moindre voisine du pôle plastique (fig. 43, 44, phot. 83, 84, 86).

Il nous a été donné de pouvoir observer cette polarité à l'état frais (œuf 66 du tableau) : l'œuf en question montrait, avant toute fixation, une moitié beaucoup plus opaque, bourrée de boules réfringentes très volumineuses, correspondant à de véritables globules graisseux, et une autre moitié, ou plutôt un tiers, du côté opposé, plus homogène, plus clair, en grande partie exempt de boules réfringentes, et représentant le segment plastique du vitellus.

Les globules polaires, comme nous l'avons vu, occupent tantôt le pôle deutoplasmique (fig. 43), tantôt le pôle plastique, tantôt siègent en un endroit de la périphérie, intermédiaire entre les pôles plastique et deutoplasmique.

Le rapprochement des deux pronucléus s'effectue dans la zone plastique de l'œuf, en dehors du plan de séparation des deux moitiés vitellines ; ils sont donc toujours plus rapprochés du pôle plastique (*p*), voisin des globules polaires, si ceux-ci siègent à ce pôle.

A un premier stade, l'axe passant par les deux pronucléus est plus ou moins perpendiculaire à l'axe passant par les deux pôles

de l'œuf ; les deux noyaux sont donc à égale distance du pôle plastique (fig. 43).

A un second stade (fig. 44, phot. 84, 86) l'axe des pronucléus subit une rotation de 45° et vient se confondre avec celui passant par les pôles deutoplasmique et plastique : il en résulte qu'un des pronucléus vient occuper à peu près le centre de l'œuf et que le second se rapproche encore plus de la périphérie.

L'œuf arrivé à ce stade est prêt à entrer dans la phase de la segmentation.

Les corps énigmatiques ne se retrouvent plus toujours à la périphérie du vitellus, comme dans tous les stades précédents.

Ils peuvent se rapprocher du centre de l'œuf. Dans un certain nombre de cas, quand ils sont au nombre de deux, ils sont nettement rapprochés l'un de l'autre, et siègent, généralement entourés d'une aréole claire, au sein d'une masse vitelline spéciale, manifestement granuleuse et compacte, plastique.

Dans cette région, on ne trouve jamais de boules graisseuses volumineuses et les formations mitochondriales y sont particulièrement nombreuses (fig. 44, ce., pl. XV).

Il serait bien téméraire de vouloir déterminer le rôle que le ou les corps énigmatiques jouent dans le processus de la segmentation ; mais il est incontestable qu'ils interviennent dans le processus de la vitellogenèse et surtout de la genèse du vitellus plastique. En effet, pendant la plus grande partie de la période d'accroissement et durant toute la phase de la fécondation, on les trouve toujours au sein de la couche corticale plastique.

Vers la fin de cette dernière période, ils s'éloignent de la membrane vitelline et il persiste autour d'eux une zone de vitellus formateur, plus ou moins large (fig. 44). Quel que soit leur siège, dans leur voisinage immédiat, le vitellus deutoplasmique se transforme en vitellus formateur.

Ils président donc incontestablement à la genèse d'une partie de ce dernier. Sous ce rapport, les corps énigmatiques ont une fonction analogue à celle du corps vitellin, autour duquel s'élabore la couche vitellogène mitochondriale. A ce stade de l'évolution de l'œuf, on ne peut guère parler de vitellus plastique et de deutoplasme. D'après les recherches de O. Vander Stricht,

qui a surtout bien précisé la signification de la couche vitellogène, il apparaît dans ce croissant, non seulement des formations mitochondriales, mais, chez la femme, de nombreuses boules graisseuses deutoplasmiques.

Les corps énigmatiques, dont l'origine ne peut être rattachée aux corps vitellins semblent présider exclusivement à la genèse et à l'élaboration du vitellus plastique.

Il résulte de cette étude sur la vitellogenèse de l'œuf de chatte, durant la période de la maturation et durant celle de la fécondation, qu'on peut toujours distinguer dans le vitellus une moitié deutoplasmique et une autre moins riche en boules graisseuses, l'ébauche de la partie plastique.

Les œufs se comportent d'une manière très variable, tout d'abord et surtout au point de vue de la quantité de deutoplasme.

A un moment donné de l'ovogenèse normale, les uns en renferment beaucoup, d'autres très peu. Ensuite, la répartition des boules graisseuses, pour chacun des deux types précédents, varie également. Généralement elle n'est point symétrique par rapport à un axe de l'œuf qui passerait par l'axe d'un des fuseaux de direction, ou bien par le pôle où siègent les deux globules polaires expulsés (fig. 45*a*, texte). Toutefois cette asymétrie semble disparaître avant la période de la segmentation. A ce stade, l'œuf de chatte est constitué, comme celui de chauve-souris (O. Vander Stricht) et celui de cobaye (Rubaschkin, Lams et Doorme), d'une moitié deutoplasmique et d'une moitié plastique, sans aucun changement de la polarité primitive.

Les deux pronucléus conjugués, tout en restant relativement distants au sein du vitellus formateur, prennent une disposition définitive telle, que l'axe passant par leur centre, c'est-à-dire l'axe de la cellule-œuf, passe à la fois par le pôle végétatif (*d*) et le pôle animal (*p*) (fig. 45*b*, texte) (fig. 44, pl. XV ; phot. 84, 86, pl. XVIII).

Si on désigne sous le nom d'axe primitif, celui qui passe plus ou moins par le milieu de la vésicule germinative périphérique ou par les deux pôles du premier et du second fuseau de direction, nous devons admettre, à la suite de nos recherches, que cet

axe ne persiste point pendant tout le cours de la vitellogenèse. Il disparaît et est remplacé par un autre, qui correspond au futur premier plan de segmentation. Dès que cet axe définitif existe, nous sommes porté à croire que la répartition du vitellus plastique et nutritif est symétrique (fig. 45 *b*).

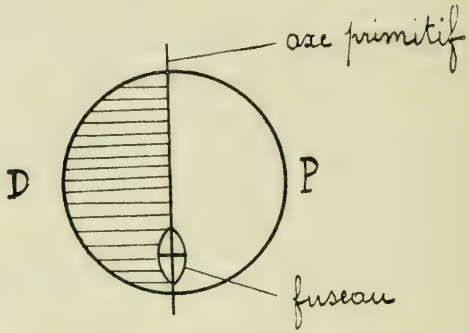


Fig. 45, *a*.

Cette symétrie de l'ovule de chatte, sans intervention d'un changement de polarité du vitellus, correspond, nous semble-t-il, à celle décrite dans l'œuf fécondé par O. Vander Stricht pour la chauve-souris, par Rubaschkin, Lams et Doorme pour

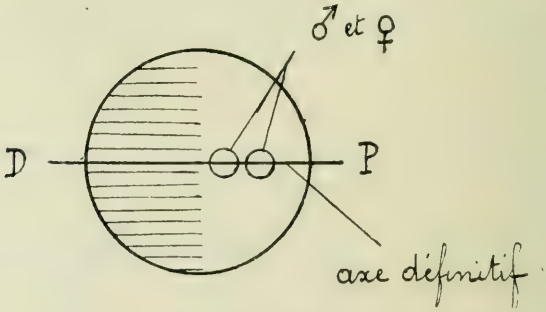


Fig. 45, *b*.

l'œuf de cobaye, ce dernier surtout riche en boules graisseuses et comparable sous ce rapport à l'ovule de chatte. Les trois auteurs précédents expliquent la genèse de cette structure définitive, d'une toute autre manière que nous, par un changement de polarité. Il est possible, probable même, que la vitellogenèse diffère quelque peu d'après les mammifères étudiés.

Enfin, attirons encore l'attention sur l'absence de véritables boules vitellines dans l'œuf de chatte, dont nous n'avons jamais pu retrouver la moindre trace.

Avant de terminer l'étude de la fécondation, nous tenons à signaler une anomalie que nous avons observée dans l'œuf 96 du tableau. A côté de deux pronucléus, rapprochés dans la moitié plastique et disposés comme dans les ovules normaux à la fin de la période de fécondation, nous avons trouvé un 3e pronucléus, distant des deux premiers et situé dans un segment de vitellus pauvre en éléments graisseux. Il faut admettre dans ce cas la pénétration, quoique exceptionnelle, de deux spermatozoïdes. Il est difficile de se prononcer sur le sort réservé à cet œuf.

CHAPITRE VIII.

Segmentation.

A. Aperçu historique de la segmentation de l'œuf.

Une foule d'embryologistes anciens ont signalé la division de l'ovule des mammifères en deux, quatre, etc., blastomères.

D'après Sobotta, Bischoff (9) figure un œuf de chevreuil divisé en trois.

Plus tard Ed. Van Beneden (1867) décrit la segmentation de l'œuf de lapine, et Van Beneden et Julin (1880) celle de l'œuf de *V. Dasycnemus* et *V. Murinus*, de *V. Mystacinus* (en trois blastomères), de *Rhinolophus ferrum equinum*, en insistant sur la différence que montrent les blastomères au point de vue des propriétés optiques et chimiques.

Heape (16) (1886) observe des stades de division de l'œuf de taupe, Keibel (1888) (23) de celui de Hérisson, Tafani (1889), Sobotta (1895), Lams et Doorme de celui de souris blanche.

Duval (1895) (11) en décrit pour l'œuf de V. Murinus, Assheton (1, 2, 3) pour celui de lapine, de mouton et de porc, Hubrecht (21) pour l'ovule de *Tarsius spectrum*, Fischer (12), Ballowitz (5) et Kunsenmüller (25) pour celui de Hérisson.

Plusieurs auteurs signalent des stades de division en trois blastomères, tendant à prouver que l'un des deux premiers doit être plus riche en vitellus plastique que l'autre, sans cependant trouver des différences de structure aussi notables que celles signalées par Van Beneden et par Van Beneden et Julin. Une polarité des deux premières sphères de segmentation n'a guère été signalée, à part chez la chauve-souris par O. Vander Stricht (54).

B. Segmentation de l'œuf de chatte.

Ne possédant aucun stade du premier fuseau de segmentation, nous devons nous contenter de décrire des œufs divisés en deux, en trois et en plusieurs blastomères.

a) Œufs segmentés en deux blastomères.—Les œufs segmentés en deux se montrent formés de deux sphères de segmentation à peu près de même diamètre. L'œuf 81 du tableau, fixé par le procédé de Benda, est particulièrement intéressant et peut servir de type pour une description applicable aux autres ovules du même stade.

Chaque blastomère est représenté par une demi-sphère, accolée à sa voisine au niveau du plan de segmentation (phot. 76, pl. XVIII). Les deux renferment un noyau au repos ; mais dans un blastomère, ce noyau unique est relativement volumineux (*n*). Il est constitué par une membrane chromatique et un caryomitome parsemé de volumineux grains nucléiniens, espèces de nucléoles nucléiniens très colorables. Le noyau du second blastomère possède une structure identique, mais il est manifestement lobé, formé de trois ou de quatre lobes, de volume inégal (*n'*). Deux lobes sont bien marqués sur la photographie 75.

Cette différence de forme entre les deux premiers noyaux paraît constante.

Un second ovule de la même chatte en montre un autre exemple. Le noyau irrégulier est représenté par un lobe volumineux et deux plus petits, voisins, mais séparés entièrement de la masse nucléaire principale.

Il en est de même pour un troisième ovule (oeuf 75 du tableau), dans lequel le noyau irrégulier est représenté par une masse principale et par un petit lobule, détaché entièrement de la précédente. Le noyau régulier, volumineux, du second blastomère est unique. Il renferme un spirème fin, dénotant un stade de la prophase.

Il faut donc admettre que le blastomère à noyau régulier entre le premier en mitose, pour engendrer le stade suivant de l'ovule segmenté en trois.

Un autre œuf, divisé en deux (œuf 60 du tableau), montre dans chaque blastomère un noyau unique, mais très lobulé ; tous les petits lobules, renfermant chacun un nucléole nucléinien, sont à peu près de même diamètre. Il n'est pas possible de trouver une différence d'aspect entre ces deux noyaux. Nous

les considérons comme correspondant à un stade d'évolution moins avancé que les précédents.

Conformément aux recherches de Ed. Van Beneden et Neyt (60) chez l'*Ascaris*, les noyaux en reconstitution sont aussi irréguliers et lobulés dans l'ovule de chatte. La différence d'aspect entre les deux se produit plus tard, quand ils sont retournés au stade de repos proprement dit.

Les trois photographies 74, 75, 76, pl. XVIII, représentent trois coupes sériées de l'œuf 81 du tableau ; les deux premières (photo. 74, 75) montrent deux coupes, non traitées par l'essence de térébenthine, avec les nombreuses boules graisseuses; la troisième (phot. 76) une coupe traitée par ce liquide, où ces éléments sont dissous.

Entre les vacuoles claires, on aperçoit des formations mitochondriales (*m*) assez grossières, surtout nombreuses au pourtour des noyaux.

Le siège de chaque noyau offre des particularités très intéressantes. Les deux (*n*, *n'*) sont manifestement excentriques, et pour l'œuf décrit (œuf 81), ils sont plus rapprochés du pôle opposé à celui où siègent les globules polaires. De plus, ils occupent toujours la moitié du cytoplasme qu'on peut désigner sous le nom de segment plastique (*s*, *s'*).

En effet, chaque sphère de segmentation est formée de deux parties, l'une deutoplasmique (*d*, *d'*) où les boules graisseuses très volumineuses sont très serrées, l'autre plastique (*s*, *s'*) où elles sont notablement plus rares, et en général plus petites. Les grands globules respectent toujours une zone périnucléaire plus ou moins étendue, où les formations mitochondriales sont particulièrement serrées et nombreuses (*m*). Ces grains spécifiques ne font point défaut dans la moitié deutoplasmique du vitellus, mais elles sont plus nombreuses dans le segment opposé, à boules graisseuses plus petites, et surtout au niveau de la zone endoplasmique périnucléaire.

Dans l'ovule en question, on retrouve dans le blastomère à noyau irrégulier un amas de cordons très chromatiques, espèces de pseudochromosomes ou de formations mitochondriales grossières, qui tendent à démontrer que ce blastomère est notable-

ment plus riche en microsomes spécifiques que l'autre. Ces pseudochromosomes ne se voient point dans les autres œufs divisés; toutefois on y aperçoit un amas analogue sous forme d'un petit noyau accessoire, intensément colorable, mais dépourvu d'une membrane nucléaire. Cet élément mitochondrial existe dans le voisinage du noyau indivis propre au grand blastomère d'un ovule, dont le premier s'est déjà divisé en deux cellules plus petites.

Enfin, détail fort intéressant, la sphère de segmentation à noyau irrégulier renferme toujours un véritable corps énigmatique, qui fait défaut dans celle à noyau régulier. On le retrouve nons eulement dans ce blastomère à noyau spécial, des œufs divisés en deux, mais aussi dans le blastomère indivis, volumineux, propre aux ovules dont le second s'est divisé en deux petites cellules (œufs divisés en trois).

Il résulte de ces considérations que :

1° Les deux blastomères d'un œuf de chatte divisé en deux, présentent des différences de structure au point de vue de la forme de leur noyau, de la rapidité du processus mitosique, parfois du nombre des formations mitochondriales grossières et toujours de l'existence d'un corps énigmatique dans le blastomère à noyau irrégulier.

2° Chaque blastomère possède une polarité très manifeste : un pôle végétatif, attenant à un segment vitellin à boules graisseuses très volumineuses et très nombreuses, et un pôle animal attenant à un segment vitellin plus riche en formations mitochondriales et plus pauvre en graisse.

3° Chaque noyau est toujours légèrement excentrique ; il est plus rapproché du pôle animal que du pôle végétatif.

Enfin nous désirons encore attirer l'attention sur un dernier détail. La plupart des œufs divisés en deux, en trois et en plusieurs blastomères, montrent des signes très manifestes d'un processus, décrit par O. Vander Stricht (56) pour l'œuf de chauve-souris, sous le nom de deutoplasmolyse. Des fragments de deutoplasme, souvent en voie de liquéfaction, siègent géné-

ralement dans le voisinage du globule polaire, avec lequel on peut les confondre assez facilement (*l*).

Ces particularités, concernant les différences de structure entre les deux premiers blastomères de l'œuf de chatte, nous paraissent confirmer entièrement les résultats, si intéressants d'Ed. Van Beneden, attribuant aux deux premières sphères de segmentation de l'œuf de lapine une signification toute différente, au point de vue de leur intervention dans la formation des parties constituantes de la vésicule blastodermique.

b) *Œuf divisé en trois blastomères.* — L'œuf 72 du tableau, fixé par les vapeurs osmiques, ensuite par le sublimé alcoolique acétique, peut servir pour la description de ce stade. Il est constitué par un grand blastomère et deux petits. Il est coupé transversalement par rapport au premier et au second plan de segmentation (fig. 45*c*, texte).

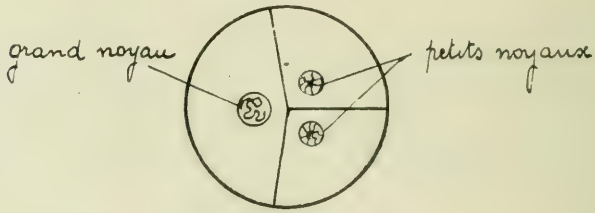


Fig. 45, *c*.

Les trois noyaux siègent à peu près à la même distance du pôle animal. On les retrouve sur deux coupes voisines.

En reconstituant cet ovule, on peut se convaincre que le second plan de segmentation coupe le premier à angle droit et passe à la fois à travers les pôles végétatif et animal.

Les sections transversales par rapport aux deux plans de segmentation, entament à la fois les trois sphères de segmentation. L'une des trois est très volumineuse, représente à peu près la moitié d'une sphère ; les deux autres sont plus petites et représentent chacune un peu plus qu'un quart de sphère. Le grand blastomère renferme un noyau volumineux (second blastomère indivis) au stade du spirème ; l'aire nucléaire claire est parsemée de plusieurs tronçons nucléiniens. Il va donc entrer

en mitose. Chaque noyau des deux autres petits blastomères est au repos, bien arrondi et notablement plus petit que ceux des deux premières sphères de segmentation.

Ce détail nous permet d'affirmer que les noyaux filles au stade de repos, dérivés de la dernière division du noyau mère du premier blastomère, sont toujours beaucoup moins volumineux que le noyau mère.

Ces trois noyaux, le grand et les deux petits, siègent au milieu d'un vitellus plastique, riche en formations mitochondriales et plus pauvre en graisse. Ces microsomes sont moins nombreux au niveau du vitellus nutritif, plus riche en boules graisseuses. Ce dernier a une tendance à circonscrire et à envelopper le segment plastique, de manière à le refouler du côté des plans de segmentation, c'est-à-dire vers les parties plus centrales de l'œuf segmenté.

Le blastomère volumineux, indivis, renferme un corps énigmatique caractéristique, et sur une des premières coupes, on observe un amas de volumineux tronçons, des pseudochromosomes, très colorables par l'hématoxyline ferrique. Cet amas, sorte de faux noyau, est distant du noyau proprement dit ; il n'est pas entouré par une membrane nucléaire et il correspond bien à celui signalé au stade précédent, à l'intérieur du blastomère à noyau irrégulier. Il est beaucoup plus rapproché du pôle végétatif que du pôle animal.

Un autre œuf divisé en trois (œuf 77 du tableau), et fixé par la liqueur de Bouin, montre des détails à peu près identiques. Le grand noyau du grand blastomère est au stade pirème ; les deux petits sont au repos. Le corps énigmatique persiste dans la sphère de segmentation indivise, mais on n'aperçoit point de pseudochromosomes. Les formations mitochondriales y sont particulièrement nettes ; elles engendrent comme dans les blastomères d'œufs divisés en deux, de véritables cordons granuleux, onduleux, mitochondriaux, séparant les vacuoles graisseuses, en grande partie cachées par ces formations mitochondriales. Des figures semblables sont visibles dans le vitellus d'œufs à la période de la fécondation.

c) *Œufs divisés en quatre et en plusieurs blastomères.* — Nous possédons des œufs divisés en quatre (œufs 76 et 78 du tableau) et d'autres plus avancés au point de vue de la segmentation : sept à huit bastomères (œufs 109, 110, 111, 112), douze à quatorze blastomères (œufs 101, 102, 103) et plus encore (œufs 104 et 105).

Il est difficile de les reconstituer et d'en faire une étude complète, ne possédant qu'un petit nombre d'exemplaires. Nous nous contenterons donc de signaler quelques particularités, se rapportant à chacun d'eux et à chacune des formations étudiées précédemment.

Au point de vue du noyau, nous retrouvons les différences de forme, signalées au début de la segmentation, avec quelques caractères spéciaux.

Dans les œufs 76 et 78, divisés en quatre et appartenant à la même chatte, chaque blastomère renferme un noyau régulier, arrondi ou ovalaire ; le caryomitome est parsemé de granulations et de petits amas chromatiques, il montre un aspect réticulé. Il ne renferme pas de nucléole.

Le noyau des blastomères des œufs 100 à 105, dont la segmentation est plus avancée, présente la même structure, mais il contient en outre un, deux, parfois trois nucléoles nucléiniens. Dans l'œuf 102, un blastomère est en voie de mitose et montre une étoile mère (fig. 90. Pl. XIX). Dans l'ovule 104 deux blastomères montrent également une étoile mère, un troisième une figure de diaster ; tous les autres noyaux sont au repos.

Dans les quatres ovules 109 à 112 du tableau, divisés en sept ou huit et appartenant au même oviducte, le noyau des blastomères présente un aspect tout différent. Toutes les cellules renferment indistinctement un noyau lobulé. Les petits lobes, au nombre de deux à quatre, peuvent faire corps avec la masse nucléaire principale ou en être détachés, tantôt faiblement distants, tantôt plus éloignés. Ces particularités sont nettement représentées sur les photographies 87, 89. Pl. XIX. Les nucléoles font défaut. Nous considérons tous ces noyaux comme venant à peine de se reconstituer. L'état lobé est une étape transitoire, le premier stade du noyau au repos.

Dans le voisinage du noyau on observe dans quelques blastomères la présence d'une sphère attractive renfermant un corpuscule central.

La graisse reste toujours abondante, même dans les œufs très avancés en segmentation, et la polarité persiste comme aux stades plus jeunes. Une moitié du blastomère est plus riche en globules graisseux ; le noyau est légèrement excentrique et est renfermé dans la moitié à deutoplasme moins abondant (phot. 88, 91. Pl. XIX). Jamais on ne voit apparaître de boules vitellines proprement dites, telles qu'on en rencontre dans le vitellus d'oiseaux et de vertébrés inférieurs.

A côté de ces œufs à graisse relativement abondante, il en existe une autre catégorie, où elle est répartie dans toute l'étendue du vitellus. Dans ces conditions cette polarité semble faire défaut (phot. 92, 93. Pl. XIX) ; toutefois les plus grosses boules respectent toujours, à un certain degré, la zone périnucléaire.

Nous constatons donc que jusqu'à une division avancée, les œufs montrent une différence notable au point de vue de la quantité de deutoplasme qu'ils renferment, les uns en contenant une quantité relativement peu abondante (photogr. 87, 88, 91), les autres étant bourrés de globules graisseux (phot. 92, 93). Ce fait est important si on se rappelle les travaux de A. Russo (64, 65) et les hypothèses émises, chez la chatte, au sujet des rapports entre la quantité de deutoplasme et le sexe.

Dans la majorité des cas chaque blastomère est disposé de façon à montrer un pôle deutoplasmique périphérique (*d*), orienté du côté de la zone pellucide, tandis que le segment plastique (*p*), contenant le noyau, est dirigé du côté du centre de l'œuf (phot. 87, 88, 91). D'autres œufs font exception à cette règle. Plusieurs blastomères de l'œuf 111 du tableau, montrent leur segment plastique (*p*) directement en rapport avec la zone pellucide (phot. 89).

Le corps énigmatique persiste dans les œufs les plus avancés en division, et se retrouve dans un ou deux blastomères. La photographie 88, reproduisant une coupe d'un œuf divisé en sept, le montre dans le segment plastique (*p*) d'un blastomère.

La photographie 90 figure une des premières coupes de l'œuf 102, segmenté en quatorze blastomères ; le blastomère contenant le corps énigmatique (*ce*) est en mitose.

La structure de cet élément est toujours la même.

Les formations mitochondriales sont toujours en grand nombre (phot. 89).

Enfin on peut retrouver les deux globules polaires.

L'étude de la segmentation de l'œuf de chatte nous permet de tirer les conclusions suivantes :

1) Chacun des deux premiers blastomères possède une polarité manifeste ; le noyau excentrique est rapproché d'un des pôles, le pôle plastique de l'ovule. Il est entouré d'un vitellus formateur à boules graisseuses moins nombreuses que dans le segment deutoplasmique opposé.

2) Les deux blastomères montrent des différences de structure au point de vue du noyau et du vitellus.

3) L'un des deux blastomères à noyau irrégulier renferme le corps énigmatique. Il se divise plus tardivement que l'autre.

4) Le premier plan de segmentation passe par les deux pôles, animal et végétatif, de l'œuf.

5) Le second plan se comporte de la même manière et il coupe le premier à angle droit.

6) L'œuf divisé en trois blastomères est formé d'un grand, à caractères identiques à celui du stade précédent, renfermant le corps énigmatique. Les deux petits possèdent un noyau notablement moins volumineux que le noyau mère.

7) Dans les œufs en segmentation plus avancée, on constate des différences de forme du noyau pour des ovules d'âge différent.

8) Les formations mitochondriales persistent toujours en grand nombre, ainsi que les boules graisseuses volumineuses, à l'intérieur de l'œuf segmenté en plusieurs blastomères. Ceux-ci montrent une polarité manifeste, comme aux stades précédents. Le ou les deux corps énigmatiques persistent.

Gand, le 30 Mai 1910. (1)

(1) Parvenu à la Direction des *Archives de Biologie*, le 29 juillet 1911.

BIBLIOGRAPHIE.

1. R. Assheton. The segmentation of the ovum of the Sheep, with observations on the hypothesis of a hypoblastic origin for the trophoblast. (*Quarterly journal of microscop. science*. Vol. LXI, page 205, 1898).

2. R. Assheton. A re-investigation into the early stages of the development of the Rabbit. (*Id.*, vol. 37, page 113, 1895).

3. R. Assheton. The development of the Pig during the firstten days. (*Id.* n° 61, p. 339, 1898).

4. G. Balbiani. Leçons sur la génération des vertébrés, recueillies par F. Henneguy. *Paris*, 1879.

5. Ballowitz. Zur Kenntniss der Eifurchung bei den Insectivoren. (*Anat. Anzeig.* Bd. XXIX, p. 674).

6. Benda. Discussion. (*Verhdl. d. Anat. Gesellsch. in Halle*).

7. Th. L. W. Bischoff. Entwicklungsgeschichte des Hunde-Eies. (*Braunschweig*, 1845).

8. Th. L. W. Bischoff. Entwicklungsgeschichte des Kaninchen-Eies. (*Braunschweig*, 1842).

9. Th. L. W. Bischoff. Entwicklungsgeschichte des Rehes. (*Giessen*, 1854).

10. Bonnet. Beiträge zur Embryologie des Hundes. (*Anat. Hefte. Erste Abt.* XXVIII-XXX. Heft; BD. IX, p. 419, 1897).

11. M. Duval. Etude sur l'embryologie des cheiroptères. (*Journal de l'Anat. et de la Physiol.*, 1895, p. 93).

12. A. Fischer. Zur Kenntniss der Struktur des Oolemmas der Säugetiereizellen. (*Anat. Hefte*, I Abt. ; 89 Heft (29 Bd ; H. 3) 1905, p. 557).

13. H. Frey. Traité d'histologie et d'histochimie (traduit par P. Spillman, avec notes par Ranvier, 1871. *Paris* (page 103).)

14. L. Gerlach. Ueber die Bildung der Richtungskörper bei Mus musculus. (Bergman. *Wiesbaden* 1906).

15. A. Gurwitsch. Idiozom und Centralkörper im Ovarialeie der Säugetiere. (*Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 56, 1900).

16. W. Heape. The development of the mole, (Talpa Europea), the ovarian ovum, and segmentation of the ovum. (*Quaterly journal of micr. science*, vol. XXVI, p. 157, 1886).

17. L. F. Henneguy. Le corps vitellin de Balbiani dans l'œuf des Vertébrés. (*Journ. de l'Anat. et de Physiol. norm. et path.*, t. XXIX, 1893).

18. M. Holl. Ueber die Reifung der Eizelle bei den Säugethieren. (*Sitzb. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Math. naturw. Cl.* Bd. CII, Abt. III, 1893).

19. M. Holl. Ueber die Reifung der Eizelle bei den Saügethieren. (*Verh. d. Anat. Ges. in Göttingen*, 1893).

20. Ch. Honoré. Recherches sur l'ovaire de Lapin. (*Arch. de Biol.*, t. XVII, (1900).

21. Hubrecht. Furchung und Keimblätter-bildung bei Tarsius spectrum, 1902.

22. J. Janosik. Sur la structure de l'œuf des mammifères. (*Bibl. anatomique*, t. 1, n° 3, 1893).

23. F. Keibel. Zur Entwickelungsgeschichte des Igels. (*Anat. Anzeiger*, 1888).

24. W. B. Kirkham. The maturation of the mouse. (*Biolog. Bull.*, vol. XII, 1907).

25. M. Kunsenmüller. Die Eifurchung des Igels. (Erinaceus europæus L.). (*Zeitschr. für wiss. Zoologie.* Bd. 58, Heft 1, p. 74, 1906).

26. H. Lams et J. Doorme. Nouvelles recherches sur la maturation et la fécondation de l'œuf des mammifères. (*Arch. de Biol.*, t. XXIII, 1907).

27. Lœuwenthal, N. Ueber die Rückbildung der Eizellen und Vorkommen von Leucocyten in Keimepithel und in den Eischläuchen. (*Intern. Monatschr. f. Anat. und Physiol.* Bd. VI, 1889).

28. E. S. London. Les corpuscules centraux dans les cellules sexuelles et sarcomateuses. (*Arch. sc. biol.*, t. VIII).

29. H. Mertens. Recherches sur la signification du corps vitellin de Balbiani dans l'ovule des mammifères et des oiseaux. (*Arch. de Biologie*, t. XIII, 1893).

30. W. Nagel. Das menschliche Ei. (*Arch. für mikr. Anat.*, t. XXXI, 1888).

31. H. Rabl. Die ersten Wachstumserscheinungen in den Eiern von Säugetieren. Vorl. Mitt. (*Sitz. Ber. d. k. Akad. Wiss. Math. natur. Kl.* Bd. 106; Abt. III; 1897).

32. H. Rabl. Mehrkernige Eizellen und mehreiige Follikel. (*Arch. f. mikr. Anat. und. Entwick.* Bd. 54, 1899).

33. Ranvier: Traité technique d'histologie, 1875.

34. G. Rein. Beiträge zur Kenntniss der Reifungserscheinungen und Befruchtungsvorgänge am Säugethierei. (*Arch. f. mikr. Anat.* Bd. XXII, 1883).

35. W. Rubaschkin. Ueber die Reifungs- und Befruchtungsprocesse des Meerschweincheneies. (*Anat. Hefte*, 89. Heft; 29 Bd; H. 3, 1905).

36. G. Sainmont. Recherches relatives à l'organogenèse du testicule et de l'ovaire chez le chat. (*Arch. de Biol.*, t. XXII, 1905).

37. S. L. Schenk. Das Säugethierei künstlich befruchtet ausserhalb des Mutterthieres. (*Mitth. a. d. embr. Inst.* I, 2. Heft. 1877.)

38. H. Schoenfeld. La spermatogenèse chez le Taureau et chez les mammifères en général. (*Arch. de Biol.*, t. XVIII, 1901).

39. J. Schütz. Ueber den Dotterkern, dessen Entstehung, Structur, Vorkommen und Bedeutung. (*Bonner Dissert.*, 1882).

40. K. V. Strobansky. Zur Frage über den sogen. « Dotterkern » (corpus Balbiani) bei Wirbeltieren. (*Arch. f. mikr. Anat.* Bd, 62).

41. J. Sobotta. Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus. (*Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 45, 1895.)

42. A. Spuler. Ueber die Teilungserscheinungen der Eizellen in degenerierenden Follikeln des Säugerovariums. (*Anat. Hefte*, 50. Heft; 1900).

43. W. Stoeckel. Ueber Theilungsvorgänge in Primordial Eiern bei einer Erwaschenen. (*Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 53, 1898).

44. A. Tafani. La fécondation et la segmentation étudiées dans les œufs des rats. (*Arch. italiennes de Biologie*, t. XI, 1889).

Id. I primi momenti dello sviluppo dei mammiferi. (*Rendi-Conti della R. Accad. dei Lincei*, 1889).

Id. I primi momenti dello sviluppo dei mammiferi. Studi di morfologia normale e patologica esegiuti sulle uova dei topi. (*R. istit. di studi sup. in Firenze*, 1889).

45. Ed. Van Beneden. Recherches sur la composition et la signification de l'œuf. (*Mém. de l'Acad. roy. des sciences*, t. XXXIV. Bruxelles 1867-1870).

46. Ed. Van Beneden. La maturation de l'œuf, la fécondation et les premières phases du développement embryonnaire des mammifères d'après les recherches faites chez le lapin. (*Bulletins de l'Acad. r. de Belgique*, 2e série, t. XL, no 12, 1875).

47. Ed. Van Beneden. Recherches sur l'embryologie des mammifères. La formation des feuillets chez le lapin. (*Arch. de Biol.*, t. I, 1880).

48. Ed. Van Beneden. Contribution à la connaissance de l'ovaire des mammifères. L'ovaire de *Vespertilio murinus* et du *Rhinolophus Ferrum equinum*. (*Arch. de Biol.*, t. I, 1880).

49. Ed. Van Beneden et Ch. Julin. Observations sur la maturation, la fécondation et la segmentation de l'œuf chez les chéiroptères. (*Arch. de Biol.*, t. I, 1880).

50. O. Van der Stricht. Les « Pseudochromosomes » dans l'oocyte de chauve-souris. (*Comptes rendus de l'Association des Anatomistes*, IVe session. Montpellier 1902).

51. O. Van der Stricht. Contribution à l'étude du noyau vitellin de Balbiani dans l'oocyte de la femme. (*Verhandl. d. Anat. Gesellsch. in Kiel*, 1898).

52. O. Van der Stricht. Structure de l'œuf des mammifères. (*Arch. de Biol.*, t. XXI, 1904).

53. O. Van der Stricht. Structure de l'œuf ovarique de la femme. (*Bull. de l'Acad. roy. de médecine de Belgique*, 1905).

54. O. Van der Stricht. La structure et la polarité de l'œuf de chauve-souris. (*V. noctula*). (*Comptes rendus de l'Association des Anatomistes*, Ve session. Liége 1903).

55. O. Van der Stricht. Les mitoses de maturation de l'œuf de chauve-souris. (*V. noctula*). (*Congrès de l'Association des Anatomistes*. Bordeaux 1906).

56. O. Van der Stricht. La vitellogenèse et la deutoplasmolyse de

l'œuf de chauve-souris. (*Comptes rendus de l'Association des Anatomistes, IXe réunion.* Lille 1907).

57. O. Van der Stricht. La structure de l'œuf de chauve-souris. (*Comptes rendus de l'Association des Anatomistes, VIIe session.* Genève, 1905).

58. Von Ebner. Koelliker's Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 1902.

59. H. Von Winiwarter. Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (lapin et homme). (*Arch. de Biol.*, t. XVII, 1900).

60. Ed. Van Beneden et Neyt. Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'ascaride mégalocéphale. (*Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 3e série, t. XIV, 1887).

61. F. D'Hollander. Recherches sur l'ovogenèse et sur la structure et la signification du noyau vitellin de Balbiani chez les oiseaux. (*Arch. d'anat. microsc.*, t. VII, 1904).

62. Waldeyer. Die Geschlechtzellen. (*Handb. d. vergl. und exper. Entwicklungslehre der Wirbelthiere*, 1902 et 1903, fasc. 9, 10, et 11).

63. Von Winiwarter et Sainmont. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (chat). (*Arch. de Biol.*, t. XXIV).

64. A. Russo. I. mitocondri ed i globuli vitellini dell' oocite di coniglia allo stato normale ed in condizioni sperimentali. Contributo allo sviluppo del deutolecite ed alla differenziazione sessuale delle ova dei mammiferi.

65. A. Russo. Metodi adoperati per aumentare artificialmente la produzione del sesso femminile nei conigli e per fissare nella prima generazione degli incroci le varieta recenti. (*Rendiconte della R. accademia dei Lincei. Classe di scienze fisische, matematiche e naturali*, Estratto dal vol. XVI).

66. W. Elpatiewsky. Die Urgeschlechtszellenbildung bei Sagitta. (*Anatomischer Anzeiger*, XXXV Band).

67. O. Van der Stricht. La structure de l'œuf des mammifères (chauve-souris). L'oocyte à la fin du stade d'accroissement, au stade de la maturation, au stade de la fécondation et au début de la segmentation. (*Mémoires publiés par la classe des sciences de l'Académie royale de Belgique*, t. II, 1909.)

EXPLICATION DES PLANCHES.

Tous nos dessins ont été faits à l'aide de l'oculaire dessinateur de Leitz, à la hauteur de la platine du microscope et à l'aide de l'objectif 1/12, hom., immersion à l'huile, Leitz, par conséquent à un grossissement d'environ 570 diamètres.

Quelques dessins (fig. 31, 34, 6, 38, 39, 40, 41, 42, 43) constituent des combinaisons de deux ou de plusieurs coupes du même œuf.

Pour les microphotographies nous nous sommes servi de l'objectif aprochromat. Apert. 1.40. Zeiss. 3 m/m, Hom. imm. et de l'oculaire de projection (ouverture 3,3).

Le tirage de la chambre noire a été de 75 cm.

Le grossissement ainsi obtenu est approximativement analogue à celui de nos dessins.

Seule la photographie 77 a été faite à un grossissement plus faible.

Toutes nos figures et photographies représentent des sections à travers l'œuf.

ABRÉVIATIONS.

v = couche vitellogène.
vg = vésicule germinative.
cv = corps vitellin.
m = formations mitochondriales.
b = boules graisseuses.
b' = petites granulations graisseuses.
z = zone pellucide.
g = granulations safraninophiles.
ce = corps énigmatique.
mv = membrane vitelline.
♀ = pronucléus femelle.
♂ = spermatozoïde ou pronucléus mâle.
1r f = 1r fuseau de maturation.
2e f = 2e fuseau de maturation.

1r gl = 1r globule polaire.
2e gl = 2e globule polaire.
d = pôle ou zone deutoplasmique.
p = pôle ou zone plastique.
sp = spermatozoïde.
nl = noyau lobulé.
cpr = cellule à prolongement de la corona radiata.

PLANCHE XIV.

FIG. 1. — Oocyte de chatte âgée de deux semaines. Fix. par le procédé de Benda. Color. par l'hémat. ferrique.

FIG. 2. — Idem.

FIG. 3. — Oocyte de chatte âgée de deux jours. Fix. par le sublimé alc. acét. Coloration par l'hémat. ferrique. Noyau deutobroque.

FIG. 4. — Idem. Noyau deutobroque.

FIG. 5. — Idem. Noyau leptotène.

FIG. 6. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Fix. par la liqueur de Bouin. Color. par l'hémat. ferrique. Noyau synaptène.

FIG. 7 à 9. — Idem. Noyaux synaptènes.

FIG. 10-12. — Idem. Noyaux de transition entre les noyaux synaptènes et pachytènes.

FIG. 13. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Fix. par le liquide de Zenker et le sublimé alc. acét. (parties égales)- Coloration par l'hématoxyline ferrique. Couronne mitochondriale autour du corps vitellin.

FIG. 14. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Fix. par la liq. de Flemming. Hématoxyline ferrique.

FIG. 15. — Idem. Noyau pachytène.

FIG. 16. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Fix. par la liq. de Bouin. Color. par l'hém. ferrique. Noyau pachytène (coupe transversale des anses).

FIG. 17. — Oocyte de chatte âgée de deux jours. Fix. par le subl. alc. acét. Coloration par l'hémat. ferrique. Noyau pachytène. Granulations safraninophiles (*g*).

FIG. 18. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Fix. par la liq. de Bouin. Hématoxyline ferrique. Noyau pachytène.

FIG. 19. — Oocyte de chatte âgée de quatre à cinq semaines. Fix. par le procédé de Benda. Color. par l'hématoxyline ferrique. Couche vitellogène bien développée (*v*).

FIG. 20. — Oocyte de chatte âgée de trois semaines. Liq. de Bouin. Hémat. ferrique. Corps vitellin éloigné de la vésicule germinative. Noyau diplotène.

FIG. 21. — Oocyte de chatte âgée de quatre à cinq semaines. Fixé par le procédé de Benda. Color. par l'hémat. ferrique. Couche vitellogène (*v*). Corps vitellin périphérique, (*cv*) renfermant deux corpuscules centraux.

FIG. 22. - Idem. Désagrégation de la couche vitellogène (*m*), deux corps vitellins périphériques (*cv*).

FIG. 23. — Oocyte de chatte âgée de quatre semaines. Fix. par la liq. de Bouin. Color. par l'hémat. ferrique. Corps vitellin périphérique (*cv*).

FIG. 24. — Noyau dictyé d'un ovule entouré de deux à trois rangées de cellules folliculaires, appartenant à un ovaire de cinq semaines. Fixat. par la liq. de Bouin. Color. par l'hématoxyline ferrique.

FIG. 25. — Noyau dictyé d'un ovule entouré de deux rangées de cellules folliculaires et appartenant à un ovaire adulte. Fixat. par le subl. alc. acét. Color. par l'hémat. ferrique.

FIG. 26. — Noyau d'un ovule d'un follicule de De Graaf. Fixat. par le subl. alc. acét. Col. par l'hémat. ferrique.

FIG. 27. — Oocyte de chatte adulte (couche corticale de l'ovaire). Fixation par le procédé de Benda. Color. par l'hémat. ferrique. Deux corps vitellins à structure granuleuse (*cv*).

FIG. 28. — Idem. Corps vitellin en division (*cv*).

FIG. 29. — Oocyte d'ovaire adulte, entouré d'un épithélium folliculaire cubique. Fixat. par le procédé de Benda. Coloration par l'hémat. ferr., coupe traitée par l'essence de térébenthine. Corps vitellins multiples (*cv*).

FIG. 30. — Oocyte d'un follicule moyen, dont l'antrum est ébauché. Fixat. par le procédé de Benda. Color. par la safranine. Deux corps énigmatiques (*ce*). Corps vitellins granuleux (*cv*).

FIG. 31. — Ovule d'un follicule moyen à épithélium folliculaire stratifié. Fixat. par la liqueur de Flemming. Color. par l'hémat. ferrique. Deux corps énigmatiques (*ce*).

FIG. 32. — Oocyte renfermé dans un follicule de De Graaf. Fixation par la liqueur de Flemming. Color. par l'hémat. ferrique. Graisse dissoute dans l'essence de térébenthine.

FIG. 33. — Idem. Coupe du même oocyte. Coloration par la safranine. Graisse non dissoute.

FIG. 34. — Ovule à la fin du stade d'accroissement, avec vésicule germinative périphérque (période de rut.). Fix. par la liq. de Hermann. Color. par la safranine. Corps énigm. (*ce*).

FIG. 35. — Ovule à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germinative périphique (période de rut.). Fix. par le liqueur de Flemming. Color. par l'hémat. ferrique. Graisse peu abondante (*b*).

FIG. 36. — Ovule à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germinative périphérique (période de rut.). Fix. par la liqueur de Flemming. Color. par la safranine. Graisse très abondante (*b*).

FIG. 37. — Œuf 3 du tableau. Coloration par la safranine.

FIG. 38. — Œuf 28 du tableau. Color. par l'hémat. ferr. Graisse abondante, dissoute dans l'essence de térébenthine. Corps énigmatique (*ce*).

PLANCHE XV.

FIG. 39. — Œuf 58 du tableau. Color. par l'hémat. ferrique. Graisse abondante dissoute dans l'essence de térébenthine.

FIG. 40. — Œuf 43 du tableau. Coloration par la safranine.

FIG. 41. — Œuf 53 du tableau. Colorat. par l'hémat. ferrique.

FIG. 42. — Œuf 50 du tableau. Color. par l'hémat. ferrique. Polarité du deutoplasme.

FIG. 43. — Œuf 65 du tableau. Color. par la safranine.

FIG. 44. — Œuf 66 du tableau. Color. par la safranine.

FIG. 45 *a*, *b*, *c*. (dans le texte). Représente trois schémas :

a) d'un œuf au stade du premier fuseau de maturation.

b) d'un œuf fécondé.

c) d'un œuf segmenté en trois blastomères.

PLANCHE XVI.

PHOT. 46. — Oocyte de chatte adulte (couche corticale de l'ovaire). Fixat. par le procédé de Benda. Color. par la safranine.

Noyaux diplotènes (*vg*). Corps vitellins à structure granuleuse (*cv*).

Phot. 47. — Oocytes de chatte âgée de quatre à cinq semaines. Procédé de Benda. Color. par l'hémat. ferrique. Couche vitellogène (*v*).

Phot. 48. — Oocytes d'un ovaire de cinq semaines. Fix. par le liq. de Zenker + subl. alc. acét. Color. par l'hémat. ferr. Corps vitellin s'éloignant du noyau.

Phot. 49. — Oocytes d'ovaire adulte (couche corticale). Fixat. par le procédé de Benda. Color. par la safranine. Corps vitellins arrondis, allongés, étranglés (*cv*).

Phot. 50. — Idem. Corps vitellin à structure granuleuse en division (*cv*).

Phot. 51. — Oocytes d'ovaire de quatre à cinq semaines. Procédé de Benda. Hématoxyline ferrique. Mitochondries dans tout le vitellus (*m*). Corps vitellin périph. (*cv*).

Phot. 52. — Idem. Désagrégation de la couche vitellogène (*m*).

Phot. 53.— Oocyte de la couche corticale d'un ovaire adulte. Fixat. par le procédé de Benda. Color. par l'hémat. ferrique. Corps vitellins multiples (*cv*).

Phot. 54. — Oocyte d'ovaire adulte (couche corticale). Fix. par la liq. de Flemming. Color. par la safranine. Apparition des granulations graisseuses (*b*).

Phot. 55. — Oocytes de chatte adulte (couche corticale de l'ovaire). Procédé de Benda. Color. par l'hémat. Corps vitellins multiples (*cv*). Couche mitochondriale périphérique (*m*).

Phot. 56.—Oocytes de chatte adulte (couche corticale de l'ovaire). Fix. par le procédé de Benda. Color. par la safranine. Corps vitellins multiples ; division (*cv*).

Phot. 57 — Oocytes de chatte âgée de deux à trois mois. Fixat. par le procédé de Benda. Color. par la safranine. Apparition de la graisse (*b*).

Phot. 58-59. — Deux oocytes entourés d'une à deux rangées de cellules folliculaires (ovaire adulte). Fix. par le sublimé 2 %. Color. par l'hémat. ferrique, noyaux dictyés, corps énigmatiques (*ce*).

Phot. 60. — Œuf moyen. Fix. par la liq. de Flemming. Color. par l'hémat. ferrique — Couche mitochondriale périphérique (*m*).

PLANCHE XVII.

PHOT. 61. — Ovule renfermé dans un follicule de De Graaf. Fix. par la liq. de Flemming. Color. par l'hémat. ferrique. Mince couche mitoch. périph. (*m*).

PHOT. 62-63. — Deux coupes d'un oocyte, renfermé dans un follicule de De Graaf. Fix. par la liq. de Flemming. Color. par la safranine. Corps énigmat. (*ce*). Corps vitellin granuleux (*cv*).

PHOT. 64-65. — Deux coupes d'un oocyte à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germ. périphér. Fixat. par le sublimé 2 %. Color. par l'hémat. ferrique. Deux corps énigmatiques (*ce*).

PHOT. 66. — Oocyte à la fin du stade d'accroissement avec vésic. germin. périph. (non représentée). Fix. par la liq. de Flemming. Coloration par la safranine. Graisse très abondante (*b*).

PHOT. 67. — Oocyte à la fin du stade d'accroissement avec vésic. germ. périph. (non représentée). Fix. par la liq. de Flemming. Color. par l'hémat. ferr. Graisse dissoute dans l'essence de térébenthine. Corps énigm. (*ce*) au milieu de la couche mitochondriale corticale (*m*).

PHOT. 68. — Coupe tangentielle d'un oocyte à la fin du stade d'accroissement. Fix. par la liq. de Hermann. Color. par l'hémat. ferr. Corps énigmatique (*ce*).

PHOT. 69. — Oocyte à la fin du stade d'accroissement avec vésic. germ. périph. Fixation par le subl. aqueux 2 %. Color. par l'hémat. ferr. La vésic. germ. est coupée tangentiellement à sa surface (boules chromatiques).

PHOT. 70. — Oocyte à la fin du stade d'accroissement avec vésicule germ. périphér. Procédé de Benda. Coloration par l'hémat. ferrique.

PHOT. 71. — Idem. Coloration par la safranine.

PHOT. 72. — Œuf 7 du tableau. Graisse dissoute dans l'essence de térébenthine. Color. par l'hémat. ferrique.

PHOT. 73. — Œuf idem. Graisse non dissoute. Coloration par la safranine

PLANCHE XVIII.

PHOT. 74-75-76. — Elles représentent trois coupes sériées à travers un œuf de l'oviducte, divisé en deux blastomères (œuf 81 du tableau). Fix. par le procédé de Benda.

Phot. 74. — Coloration par la safranine.

Phot. 75. — Coloration par l'hémat. ferrique.

Phot. 76. — Traitée par l'essence de térébenthine pour dissoudre la graisse et colorée par l'hémat. ferrique.

n = noyau régulier.
n' = noyau lobulé.
s = segment plastique du blastomère à noyau *n*.
s' = segment plastique » » » » *n'*.
d = segment deutopl. » » » » *n*.
d' = segment deutopl. » » » » *n'*.
pl = plan de segmentation (visible entre les 2 blastomères).
m = mitochondries.
z = zone pellucide.

Phot. 77. — Coupe de l'œuf 82 du tableau. Corps énigmatique. 1r globule polaire. Corona radiata. Coloration par l'hématoxyline ferrique.

Phot. 78-79-80-81-82. — Elles représentent cinq coupes de l'œuf 94 du tableau. Deux corps énigmatiques. Deux globules polaires. Deux pronucléus situés périphériquement. Coloration par l'hématoxyline ferrique.

Phot. 83. — Coupe de l'œuf 90 du tableau. Polarité nette, coloration par la safranine.

Phot. 84-85 — Deux coupes de l'œuf 89 du tableau. La première coupe (photogr. 84) a été colorée par la safranine ; la seconde (photogr. 85) a été traitée par l'essence de térébenthine et colorée par l'hématoxyline ferrique.

Phot. 86. — Coupe de l'œuf 95 du tableau. Coloration par l'hémat. ferrique.

Planche XIX.

Phot. 87 et 88. — Deux coupes d'un œuf segmenté en sept blastomères (œuf 110 du tableau). Noyaux lobulés. Corps énigmatique. Color. par l'hémat. ferrique.

Phot. 89. — Coupe de l'œuf 111 du tableau, segmenté en sept blastomères. Coloration par l'hémat. ferrique.

Phot. 90. — Elle représente une des premières coupes de l'œuf 102 du tableau (œuf segmenté en quatorze blastomères) et montre un blastomère en voie de mitose, renfermant

un corps énigmatique. Coloration par l'hématoxyline ferrique.

PHOT. 91. — Coupe d'un œuf segmenté en douze blastomères (œuf 103 du tableau). Corps énigmatique dans un blastomère. Coloration par l'hématoxyline ferrique.

PHOT. 92-93. — Deux coupes d'un œuf segmenté en trente blastomères (œuf 104 du tableau)

PHOT. 92. — Graisse dissoute dans l'essence de térébenthine. Coloration par l'hématoxyline ferrique.

PHOT. 93. — Graisse non dissoute. Coloration par la safranine.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages

Introduction. — Matériel. Technique. Période d'accroissement de l'ovule 365

Chapitre I. — Modifications nucléaires de l'ovule intéressant toute la période d'accroissement 390

Chapitre II. — Etude du corps vitellin proprement dit.

A. Bibliographie du corps vitellin proprement dit de l'œuf des mammifères 402

B. Corps vitellin proprement dit de l'ovule de chatte 403

Chapitre III :

A. Aperçu historique de la couche vitellogène et des formations mitochondriales dans l'œuf de mammifère 411

B. Couche vitellogène et mitochondries dans l'ovule de chatte 412

Chapitre IV. — Granulations safraninophiles (colorables) et corps énigmatiques.

A. Aperçu historique 420

B. Dans les oocytes de chatte 420

Chapitre V :

A. Historique du deutoplasme et de la graisse et du vitellus en général. 426

B. Deutoplasme ou graisse dans l'ovule de chatte . 429

Chapitre VI. — Maturation.

A. Aperçu bibliographique 436

B. Œuf au stade du 1er fuseau de maturation. . . 438

C. Œuf au stade du 2d fuseau de maturation . . . 441

Pages

Chapitre VII. — Fécondation.

A. Bibliographie de l'œuf au stade de la fécondation 446

B. Fécondation chez la chatte.

a) Œuf au début de la fécondation 448

b) Œuf au stade des deux pronucléus. . . 451

Chapitre VIII. — Segmentation.

A. Aperçu historique. 458

B. Segmentation de l'œuf de chatte.

a) Œuf segmenté en deux blastomères . . . 459

b) Œuf segmenté en trois blastomères . . . 462

c) Œuf segmenté en plusieurs blastomères . 464

Bibliographie 467

Explication des planches 472

Le tissu interstitiel et les corps jaunes de l'ovaire.

PAR

NICOLAS POPOFF

Chef des travaux anatomiques et embryologiques
à l'Université de Lausanne.

Planches XX, XXI, XXII, XXIII.

AVANT-PROPOS.

L'ovaire de la taupe montre sur la coupe deux parties distinctes : 1° un lobe principal (interne) renfermant les follicules et les ovules, 2° un lobe accessoire (externe) offrant des vésicules closes revêtues d'épithélium, ainsi qu'un abondant tissu de remplissage. Le lobe externe présente cette particularité qu'il est, à une certaine époque de l'année (février-mars), beaucoup plus volumineux que d'habitude. Il forme à ce moment les deux tiers au moins de l'ovaire total. Cette période de développement maximum du lobe accessoire correspond précisément avec la phase de gestation.

Examinant avec moi une série de coupes faites au mois de mars 1910, mon cher maître, Monsieur le Prof. Ed. BUGNION m'engagea à soumettre l'ovaire de la Taupe à une étude plus approfondie et plus complète.

Ce conseil, ponctuellement suivi, a été l'occasion du présent travail.

Ayant reconnu au sein du lobe externe une forme et une disposition spéciales du tissu dit " interstitiel „ de la glande génitale, je recueillis le matériel nécessaire et m'appliquai à recher-

cher l'origine des cellules interstitielles de l'ovaire et leur mode de formation.

Cette étude commencée chez la Taupe, étendue ensuite à titre de comparaison à la Chienne et à la Belette, m'a conduit, comme on verra tout à l'heure, à des résultats intéressants et instructifs.

INTRODUCTION.

Nous savons que chez l'embryon humain, au commencement du deuxième mois, on trouve, de chaque côté du mésentère primitif, les *corps de Wolff* ou *reins primitifs*. D'origine mésodermique, rétropéritonéaux, leur surface libre fait, dans la cavité du cœlome, une saillie très vasculaire, dite *bandelette* ou *éminence uro-génitale*. Ces corps, destinés à être remplacés par les reins définitifs, sont constitués par un stroma embryonnaire, au sein duquel on trouve les canalicules Wolffiens en rapport intime avec des glomérules vasculaires.

L'éminence uro-génitale supporte à un moment donné, une saillie secondaire, longitudinale, occupant à peu près la moitié supérieure de sa face antéro-interne : c'est *l'éminence génitale ou sexuelle*. Le premier indice de l'ébauche génitale se montre chez le jeune embryon de Chat de 18 jours (Sainmont).

L'épithélium péritonéal qui recouvre le corps de Wolff, est presque partout aplati, sauf sur le côté antéro-interne, où il présente dès la 4me semaine chez l'embryon humain (IVe jour de l'incubation chez le Poulet) de profondes modifications, qui lui ont fait donner le nom d'*épithélium germinatif*. Cet épithélium, formé de cellules asssez hautes, cylindriques, s'épaissit et se dispose en deux ou trois assises d'apparence irrégulière. En même temps, on voit apparaître dans son épaisseur des éléments plus volumineux, sphériques, à contours précis, munis d'un protoplasma abondant, finement granuleux, avec un gros noyau arrondi, pâle, dans lequel on distingue nettement un résau chromatique. Ces éléments sont les *ovules primordiaux* de Waldeyer. (Sainmont a observé des ovules primordiaux pour la première fois chez l'embryon de Chat de 33 jours.). Ceux-ci existent aussi bien, au début, chez les embryons mâles que chez les embryons femelles. Chez les uns comme chez les autres, l'éminence sexuelle présente les mêmes caractères pendant les premières phases du développement. Cet état sexuel indifférent dure jusqu'au IVe jour chez l'embryon de

Poulet, jusqu'au 14 $^1/_2$ jour chez le Lapin (Bennet Mills Allen, cité par Aimé) et jusqu'au 27e jour chez l'embryon humain (Debierre).

L'épithélium germinatif repose directement sur le stroma mésodermique du corps de Wolff, qui est constitué par des cellules embryonnaires. C'est ce stroma, en proliférant d'une façon très active, qui détermine avec l'épithélium germinatif, la saillie allongée, fusiforme, située à la face antéro-interne du corps de Wolff, connue sous le nom d'éminence génitale ou sexuelle.

Vers la même époque, les limites, qui étaient très nettes entre l'épithélium germinatif et le stroma sous-jacent, s'effacent et les deux formations paraissent se pénétrer réciproquement.

Les éléments de l'épithélium germinatif se multipliant sans cesse, par voie cinétique, ne tardent pas à pousser des bourgeons cellulaires pleins, qui s'enfoncent dans l'épaisseur du stroma mésodermique où ils constituent les cordons de Valentin ou de Pflüger. En même temps, le stroma, lui aussi, ne reste pas indifférent ; il continue à proliférer et envoie des prolongements qui s'insinuent entre les cordons de Pflüger. Par ce fait, ces derniers s'étranglent, prennent un aspect ramifié, moniliforme et tout l'ovaire présente sur la coupe une configuration alvéolaire, glandulaire. Mais déjà on peut, dans les cordons de Pflüger, distinguer deux espèces de cellules : les unes plus grosses, à contours bien accusés, les *ovules primordiaux*, nés par simple transformation des cellules de l'épithélium germinatif ; les autres, petites, mais actives, augmentant rapidement en nombre, disposées à la surface des ovules, les *cellules folliculeuses*, futures cellules de la granulosa.

Tel est l'état de l'ovaire vers la fin du 2e mois. A ce moment, le tissu connectivo-vasculaire commence à se développer rapidement, pénètre sous forme de tractus fins dans les cordons, les segmente en amas de plus en plus petits et cette fragmentation ne cesse qu'après leur division en corps arrondis, qui sont les *follicules primordiaux*. Chacun de ces follicules renferme un ovule, entouré d'une seule couche de cellules folliculeuses aplaties et d'un cercle de fins capillaires sanguins. A l'élément connectif s'ajoute, dans le stroma ovarien, une quan-

tité plus ou moins considérable de cellules musculaires lisses, très abondantes dans la substance médullaire, où elles se disposent irrégulièrement autour des vaisseaux.

Le stroma de l'ovaire nous présente encore des cellules spéciales, dites *cellules interstitielles*, offrant une grande analogie avec celles du testicule.

Ces éléments, d'apparence glandulaire, en rapport étroit avec les capillaires sanguins, sont caractérisés par leur noyau rond et volumineux, toujours indivis et par un cytoplasma abondant, fixant énergiquement certaines teintures, telles que l'éosine ou l'acide picrique. L'acide osmique y décèle le plus souvent un nombre variable de gouttelettes graisseuses, disséminées dans le corps cellulaire.

On a employé des expressions variées pour désigner ces éléments ;

Pflüger (1863) a, le premier, mentionné dans l'ovaire de jeunes animaux (Chattes, Chiennes de 3 à 6 semaines) des amas de cellules conjonctives, remplies de granulations graisseuses.

His (1865) découvre ces cellules dans l'ovaire de Chatte et de Vache. Il les a appelées " Kornzellen „ et croit qu'elles ne sont autre chose que des cellules migratrices.

Waldeyer (1870) en décrit dans l'ovaire d'un fœtus humain de 32 semaines sous le nom de *Parenchymazellen*. Il les a considérées aussi comme des cellules migratrices (*Plasma* ou *Wanderzellen*).

Les mêmes éléments observés dans le testicule ont été désignés par Leydig (1857) sous le nom de *Zwischenzellen*, et plus tard par Tourneux (1879) sous celui de *cellules interstitielles*. L'ensemble de ces cellules a été considéré par Bouin et Limon, comme une *glande interstitielle* de l'ovaire, semblable à celle du testicule.

Rabl (1898) a observé dans les ovaires de Souris, de Lapine et de Femme, des cellules interstitielles au voisinage des follicules atrésiques. Tandis que les follicules dégénèrent, un grand nombre de cellules du stroma se transforment en cellules épithélioïdes.

Limon (1901) fait une étude approfondie des cellules inter-

stitielles de l'ovaire chez les rongeurs, insectivores et chéiroptères. N'ayant constaté aucun rapport génétique entre les cellules interstitielles et les cordons médullaires, il fait dériver ces éléments des cellules conjonctives de la thèque des follicules. La prolifération de ces cellules a pour résultat la formation d'un organe spécial d'apparence épithéliale, le faux corps jaune, qui évolue en glande interstitielle.

Sainmont (1904) les étudie chez l'embryon de Chat. Pour lui, l'origine des formations interstitielles est conjonctive, et on peut voir facilement chez l'embryon les différents stades de passage.

Tourneux (1904), dans un travail sur l'ovaire de la Taupe conclut que la glande génitale des mammifères est originairement hermaphrodite, composée à la fois d'un testicule et d'un ovaire ; que les cellules interstitielles qu'on observe dans la trame conjonctive de l'ovaire des mammifères adultes appartiennent en propre au testicule.

Frænkel (1905) a étudié le tissu interstitiel de l'ovaire chez plusieurs mammifères adultes. Sur les 45 espèces examinées, 24, en y ajoutant la Femme, ont un ovaire absolument dépourvu de ce tissu.

Aimé (1907) confirme les observations de Frænkel sur l'absence des cellules interstitielles chez la Femme. Etudiant les glandes sexuelles d'un fœtus de Cheval de 2 $^1/_2$ cm., cet auteur constate que l'ovaire a tous les caractères d'un organe embryonnaire non différencié. La différenciation est déjà plus avancée chez un fœtus de 9 cm. La partie glandulaire interstitielle est bien distincte de la partie ovigère. La masse interstitielle est formée de cellules polyédriques à membrane très nette. Elles sont disposées isolément ou par groupes, dans un tissu mésenchymateux à mailles assez lâches, très riche en capillaires. Chez le Cheval, le tissu interstitiel augmente d'importance avec l'âge du foetus. L'auteur fait remarquer à ce propos, que malgré son extraordinaire développement, ses cellules ne présentent jamais de division. Les cellules interstitielles ne peuvent donc prendre naissance que par différenciation sur place d'éléments déjà existants.

L'ovaire du foetus de Cheval à peu près à terme est surtout

caractérisé par l'atrésie folliculaire et la formation de faux corps jaunes. Ces derniers se transforment eux aussi en tissu interstitiel.

Avant d'aborder l'étude détaillée des cellules interstitielles, voyons quelles sont les modifications que subit l'ovaire foetal chez l'homme et les animaux pour passer à l'état adulte. Les follicules primordiaux s'individualisent rapidement à tel point que chez les enfants de 3 ans, on ne rencontre plus de cordons de Pflüger. D'autres phénomènes, non moins importants, s'accomplissent dans l'ovaire dès la naissance jusqu'à la puberté. Tout d'abord l'épihélium germinatif se réduit à une couche unique, qui est l'épithélium de revêtement de l'organe et presque tous les auteurs admettent que chez la Femme, il ne se fait plus, à partir de la naissance, aucune néoformation d'ovules et de follicules. Il en est peut-être autrement chez certains mammifères, notamment chez les Chéiroptères, Carnassiers, Reptiles (Stratz).

Un autre phénomène, surtout marqué au moment de la naissance ou quelques temps après, consiste dans ce fait que quelques follicules s'accroissent, peuvent même former des vésicules saillantes à la surface de l'ovaire mais " sont arrêtés par la dégénérescence à un stade quelconque, alors même qu'ils ont la taille d'un follicule mûr „ (Renaut).

Un dernier fait observé à maintes reprises, est la destruction incessante des follicules primaires. Déjà commencée pendant la vie intra-utérine, cette destruction marche à pas rapides chez l'enfant et il en résulte une diminution considérable des follicules primordiaux.

Les ovisacs subissent deux ordres de transformations : ils s'atrésient ou deviennent des corps jaunes. La plupart des follicules s'atrésient, lorsqu'ils sont encore à l'état rudimentaire (follicules primordiaux), par dégénérescence kystique, graisseuse, hyaline ou pigmentaire, (Slawiansky, Henneguy, Paladino). Mais d'autres acquièrent, avant d'avorter, un certain développement, avec une granulosa pluristratifiée et une théca bien vascularisée. Il en est même qui offrent tous les caractères de l'ovisac mûr et qui se transforment, sans laisser échapper

l'ovule, en petites masses d'un tissu conjonctivo-vasculaire spécial, appelées *faux corps jaunes* (Sobotta), ou *corps jaunes atrétiques* (Kölliker, Van der Stricht). Les processus de leur formation nous sont assez bien connus, surtout depuis la découverte de leur transformation en tissu interstitiel (Limon).

Dans son évolution normale et complète, le follicule de de Graaf se rompt, en laissant échapper l'ovule et se transforme en *corps jaune vrai*. Il est classique de distinguer chez la Femme les faux corps jaunes ou corps jaunes de la menstruation et les vrais corps jaunes ou corps jaunes de la grossesse, suivant qu'ils succèdent à un follicule dont l'ovule expulsé n'a pas ou a été fécondé. Chez la Femme, les deux ordres de corps jaunes évolueraient de la même façon et présenteraient toujours une structure identique (Sobotta).

Il ne faut pas confondre les corps jaunes de la menstruation de la Femme avec les faux corps jaunes des animaux. Nous verrons plus loin, que chez certaines espèces (Lapine, Taupe, Rat, Belette, etc.) les faux corps jaunes se transforment en glande interstitielle, qui persiste ensuite très longtemps, tandis que chez la Femme, ils disparaissent au bout de six ou huit semaines, sans laisser de traces.

Plusieurs opinions ont été émises sur l'origine des cellules interstitielles et des corps jaunes (faux ou vrais). Les avis sont également très divisés quant aux rapports qui peuvent exister entre ces deux formations.

L'origine conjonctive des cellules interstitielles est admise par His, Tourneux, Van Beneden, Regaud et Policard, Limon, Sainmont, Aimé, etc..

Schrön les fait dériver par dissociation des corps jaunes.

Rouget, Schulin, les font provenir des cordons médullaires n'ayant pas pris part à la formation des follicules. Cette manière de voir peut s'appliquer à l'ovaire de Taupe où nous avons rencontré des cellules interstitielles typiques au sein de la partie médullaire. Chez la Chienne, les cellules interstitielles ne dérivent pas des cordons médullaires, très développés chez cet animal, cordons qui conservent leur structure épithéliale durant toute la vie, mais d'une autodifférenciation des

cellules mésenchymateuses, analogue à celle qui a lieu dans le testicule foetal.

Tourneux considère les cellules interstitielles qu'on observe dans la trame conjonctive de l'ovaire des mammifères adultes, comme appartenant en propre au testicule.

Cette divergence de vues résulte principalement de ce que la plupart des auteurs qui se sont occupés de cette question, ont porté leurs investigations sur des espèces différentes et surtout d'âge différent. Or, nous savons, depuis les travaux de Aimé, que les Solipèdes possèdent du tissu interstitiel pendant la période foetale ; que les Chéiroptères, Insectivores et Rongeurs ont une glande interstitielle de l'ovaire à l'âge adulte (Limon). Nous distinguerons encore les Mammifères possédant un ovaire privé de glande interstitielle (Homme, Porc, Mouton, Chèvre, Sanglier) d'après Aimé, et enfin des Mammifères ayant un ovaire pourvu de glande interstitielle chez le foetus et chez l'adulte (Chat) (Sainmont). Nous ajouterons à cette liste la Taupe, dont l'ovaire est riche en tissu interstitiel tant chez le foetus que chez l'adulte.

L'origine des cellules à lutéine, bien plus controversée, n'est actuellement pas encore définitivement établie. Voici les théories émises à cet égard.

1° Les cellules à lutéine ne seraient que des cellules de la thèque interne, multipliées et hypertrophiées en même temps que le tissu conjonctif fibreux leur formerait un tissu de soutien et les vaisseaux un réseau capillaire abondant. L'épithélium folliculaire dégénérerait et se détruirait tout entier après la rupture du follicule (Von Baer, His, Kölliker, Paladino, Nagel, de Sinèty, Gegenbaur, Minot, etc.).

Cette théorie a été récemment reprise par Clark (1898) chez le Porc et l'Homme et par Delestre (1910) chez la Vache. Ces auteurs font dériver les cellules du corps jaune des éléments de la thèque interne. Ceux-ci, à leur tour, naîtraient par transformation des cellules fixes du tissu conjonctif renfermées dans cette thèque. Les recherches de Bouin sur les faux corps jaunes plaident aussi en faveur de cette manière de voir.

2° Le corps jaune tire son origine de la granulosa ou épithélium folliculaire, persistant et remanié par le tissu mésodermique de la thèque interne (Schrön, Waldeyer, Sobotta, Rabl, Schulin, Van Beneden, Cornil, etc.)

Sobotta a étudié la formation des corps jaunes chez la Souris et la Lapine. Il soutient énergiquement la naissance des cellules à lutéine par simple hypertrophie (et non hyperplasie) des éléments de la granulosa. Il ne nie pas cependant le rôle des cellules de la thèque interne, mais celles-ci seraient destinées à former les cloisons conjonctives qu'on rencontre dans l'intérieur du corps jaune et peut-être à fournir les matériaux de nutrition nécessaires à l'accroissement des éléments de la granulosa. Enfin des leucocytes, immigrant de la périphérie vers le centre du follicule, contribueraient, pour leur part, à édifier le noyau conjonctif central du corps jaune.

La théorie de Sobotta a été reprise par Belloy (1899) chez le Rat et le Cochon d'Inde, et par Honoré (1900) chez le Lapin. D'après ces auteurs le corps jaune se formerait bien aux dépens de l'epithélium folliculaire, mais sans aucun remaniement extérieur. Les cellules épithéliales seules se transforment sur place pour constituer le nouveau tissu.

3° Une troisième opinion, émise par Rabl (1898) à la suite de ses recherches sur l'ovaire de la Femme et par Van der Stricht (1901, 1908) sur plusieurs espèces de Chauve-souris, la Femme et la Chienne, vient concilier les deux opinions précédentes, en montrant que les cellules à lutéine du corps jaune dérivent à la fois des cellules épithéliales folliculaires et des cellules interstitielles conjonctives de la thèque. Loisel qui partage cette opinion admet en plus l'origine commune des cellules interstitielles et des cellules folliculeuses.

Pour Winiwarter et Sainmont (1909) le tissu jaune provient d'une part, des cellules folliculeuses qui s'hypertrophient sans montrer de multiplication, se chargent de graisse et prennent les caractères des cellules à lutéine, d'autre part, par l'intervention du tissu conjonctif et de vaisseaux dérivant, selon toute probabilité, de la partie fibreuse de la thèque interne seule, sans participation des cellules interstitielles.

Au cours de ce travail, nous exposerons d'abord l'origine des cordons médullaires chez l'embryon de Taupe qui est très favorable à cet égard. Nous avons également fait quelques observations sur les cordons médullaires de l'ovaire de Chienne, où ils sont extrêmement développés et persistent toute la vie, ainsi que sur le tissu interstitiel de cette espèce.

La formation du tissu interstitiel aux dépens du corps jaune atrésique sera examinée chez la Taupe et la Belette, espèces chez lesquelles le tissu interstitiel atteint un très grand développement.

Ayant eu à notre disposition un nombre considérable de Taupes, sacrifiées avant, pendant et après la gestation, c'est aussi chez cet animal que nous étudierons plus spécialement l'origine du vrai corps jaune.

TAUPE.

Technique. — Voici l'exposé des principales méthodes utilisées. Des Taupes ont été disséquées en février, mars, avril, mai, juin, juillet et août. Chaque fois, la glande génitale, enlevée après ligature des vaisseaux, a été plongée avec les organes environnants (corne utérine et trompe) dans un liquide fixateur approprié (liquides de Gilson, de Bouin, de Zenker, de Flemming), ou dans un mélange de bichromate de potasse et de sublimé corrosif. Des coupes fines, sériées, faites après enrobage dans la paraffine, ont été colorées, soit à l'hémalun et l'éosine, soit à l'hématoxyline ferrique seule ou suivie d'une seconde coloration à l'éosine ou le mélange de Van Gieson. Nous avons également fait des colorations à l'orcéine ou au Weigert pour les fibres élastiques. Quelques coupes ont été traitées par la méthode de Bielchowsky. Ajoutons que pour chaque Taupe, les deux ovaires furent chaque fois débités en coupes sériées, ainsi que les embryons lorsqu'il y en avait ; ceci en vue de l'étude du développement de la glande génitale en général et du tissu interstitiel en particulier.

*
* *

L'ovaire est situé dans une capsule entièrement close (Weber, 1826), à l'intérieur de laquelle débouche l'orifice terminal de

l'oviducte (fig. 1). La poche ovarique est close chez le Phoque (ALBERS, 1806), la Fouine (TREVIRANUS), la Loutre (WEBER) et l'Hermine (WAGNER), (voy. CUVIER).

D'après TOURNEUX (1904), cette poche communiquerait chez la Taupe avec le péritoine par un orifice très réduit, situé entre l'extrémité de la corne utérine et le voisinage du pavillon de la trompe. Tel n'est pas notre avis.

Ayant insufflé de l'air, soit directement en piquant avec un tube de verre effilé, dans la paroi de la poche ou mieux encore par la corne utérine, dans les deux cas l'air resta emprisonné et aucune fuite ne se produisit. Des injections pratiquées avec un liquide coloré, ont confirmé ces résultats.

On lit dans tous les traités d'anatomie, que l'ovaire des mammifères est formé de deux parties principales : 1° Une partie externe, superficielle, plutôt pauvre en vaisseaux sanguins, renfermant les follicules ovariques et recouverte extérieurement par un épithélium : c'est la portion *glandulaire* ou *ovigène* (SAPPEY) ou encore *corticale* ou *parenchymateuse* (WALDEYER) ou *ovigère* (M. DUVAL); 2° Une partie centrale, richement vascularisée, dépourvue de follicules : c'est la portion *bulbeuse* ou *spongieuse* (SAPPEY), la zone *médullaire* ou *vasculaire* (WALDEYER). Les corps jaunes occuperaient exclusivement la couche corticale. Une telle description ne saurait toutefois s'appliquer à la Taupe. Les différences portent d'une part sur la disposition relative des parties corticale et médullaire, d'autre part sur le revêtement de la surface.

L'ovaire de la Taupe adulte se compose de deux segments distincts : 1° un interne, tourné du côté de la corne utérine, blanchâtre, légèrement bosselé, offrant tous les caractères d'un ovaire normalement développé; 2° un externe, rosé, situé en dehors de la poche ovarique, entièrement formé de tissu interstitiel. L'oviducte, contenu dans l'épaisseur de la capsule, décrit une circonvolution complète autour de l'ovaire et n'entre en rapport qu'avec la portion ovigère. Un léger sillon indique, à la surface de l'organe, la séparation des deux segments ; le repli péritonéal qui constitue la poche ovarique s'insère au fond du dit sillon et se prolonge en dehors, à la surface externe de la

masse interstitielle, dont il forme le revêtement superficiel. La zone corticale, au lieu d'envelopper la portion médullaire (interstitielle) lui est, au contraire, juxtaposée.

Nous appellerons " *glande interstitielle* „ le segment externe de l'ovaire et désignerons le segment interne sous le nom de " *portion ovigère* „. Ce dernier renferme aussi chez la Taupe adulte du tissu interstitiel, mais il résulte d'un remaniement des faux corps jaunes, tandis que dans le segment externe, le tissu interstitiel se montre déjà chez l'embryon.

Remarquons en passant, que les dénominations de segment externe et de segment interne se rapportent seulement à l'animal adulte. Chez l'embryon, d'après nos propres observations, le segment dit " externe „ est tourné du côté de la ligne médiane, tandis que le segment dit " interne „ (portion ovigère) regarde en dehors. C'est peu de temps après la naissance, lorsque le corps de Wolff atrophié ne supporte plus l'ovaire, que celui-ci change son orientation. Le segment externe devient interne et dès ce moment se trouve complètement renfermé dans une poche que lui a fourni le péritoine. Les premiers rudiments de la poche ovarique se montrent chez l'embryon de 30 mm. Dans son épaisseur chemine l'oviducte, qui, dès que la poche est formée, fait autour d'elle un tour complet.

Le segment externe (glande interstitielle) comprend deux formations bien distinctes : d'une part des follicules épithéliaux arrondis, dont les cellules constituantes présentent chez le jeune sujet des mitoses typiques ; d'autre part des éléments interstitiels proprement dits, disséminés dans les mailles d'un riche réseau capillaire et n'offrant presque jamais de figures de divisions. Ajoutons que les follicules sont entourés d'une mince membrane nucléée, bien accusée. La signification et l'origine de ces formations seront étudiées ultérieurement.

Les deux segments sont séparés extérieurement par un sillon qui répond à l'insertion de la poche ovarique et dans la profondeur, ainsi que nous le montrent les coupes, par une zone de gros vaisseaux.

Le segment externe, d'abord signalé par Treviranus, par Claparède et par Leydig (1857), a été étudié chez la Taupe,

l'Hermine et Vesperugo pipistrella, par Mac Leod (1879, 1880), qui le compara à un parovarium énorme, beaucoup plus grand que l'ovaire lui-même et non enveloppé par lui.

Wagener (1879) considère le segment externe de l'ovaire de la Taupe, comme constitué par un corps jaune.

Tourneux (1904), l'envisage comme un testicule rudimentaire, d'origine Wolffienne, accolé à l'ovaire.

Développement de l'ovaire.

Le moyen le plus sûr de comprendre la signification des divers segments de l'ovaire, est d'en faire l'étude dès leur première apparition. Le développement embryologique nous permettra d'élucider la part exacte que prend le corps de Wolff dans l'édification de la glande génitale. La question est intéressante, non seulement pour l'ovaire de la Taupe, mais pour l'ovaire en général. L'étude embryologique nous montrera d'autre part, les premières ébauches des formations interstitielles, ainsi que les divers changements que subissent les cordons de Pflüger, avant d'engendrer les follicules définitifs.

Partant de cette idée, nous avons étendu nos observations à un grand nombre d'embryons, d'âges différents. Des embryons de 3, 4, 7, 12, 15, 22, 25, 31 et 33 mm., recueillis en mars et avril, fixés dans le liquide de Gilson (les plus petits), ou de Bouin et de Zenker (les moyens et les gros), ont été débités en coupes sériées, après inclusion dans la paraffine. Les colorations ont été faites sur le porte-objet, après collage des coupes à l'eau distillée. Nous avons évité les colorations en masse, qui ne donnent pas toujours les résultats désirés.

Avant de commencer notre exposé, il convient de résumer brièvement les opinions émises par les auteurs au sujet du développement de l'ovaire et de la glande interstitielle. Nous insisterons principalement sur le récent travail de Von Winiwarter et Sainmont (1909), le plus complet à cet égard. D'après ces auteurs, l'épithélium germinatif de l'ovaire du Chat, présente au cours du développement trois proliférations successives, caractérisées chacune par son évolution particulière. Pendant la période dite d'indifférence sexuelle, l'épithélium germinatif

donne naissance à des cordons épais qui empiètent sur le tissu conjonctif sous-jacent. Après avoir rompu leurs connexions d'avec l'épithélium germinatif, qu'une albuginée primitive isole, ces cordons sont destinés à devenir dans le testicule des " *canalicules séminifères* ", dans l'ovaire des tubes séminifères avortés, désignés sous le nom de " *cordons médullaires* ". *C'est la période de la première prolifération.* Au moins est-ce là l'opinion de Von Winiwarter et Saimont (1909) qui comprennent sous le nom de cordons médullaires, des formations épithéliales dérivées de cette première prolifération de l'épithélium germinatif, et dont les homologues sont les tubes séminifères du mâle. Les cordons médullaires de l'ovaire du Chat sont des organes qui ont une durée passagère : ils disparaissent par dégénérescence graisseuse vers la septième ou huitième semaine qui suit la naissance.

Schulin (1881) avait émis l'hypothèse que les cordons médullaires sont une prolifération de l'épithélium germinatif, tout comme les cordons de Pflüger : se seraient des cordons de Pflüger privés d'ovules.

Beaucoup d'auteurs les ont fait provenir des canalicules du corps de Wolff ou de la capsule de Bowmann (Waldeyer, Harz, Paladino, Hertwig, Tourneux). Suivant Schmiegelow (1882), les cordons médullaires ou rayons sexuels se constitueraient par autodifférenciation du stroma et n'auraient de connexion ni avec l'épithélium germinatif, ni avec les canalicules Wolffiens.

Peut être quelques uns d'entre eux, ont-ils fait une confusion entre les cordons médullaires proprement dits, dérivés de l'épithélium germinatif et les formations désignées sous le nom de rete ovarii, homologue du rete testis.

Au stade de 24 jours post-coïtum, l'épithélium superficiel de l'ovaire du Chat donne lieu chez la femelle à une *deuxième prolifération*, les premières ébauches des tubes de Pfluger, tandis que chez le mâle cette prolifération n'a pas lieu, les tubes embryonnaires persistant seuls. L'albuginée primitive sous-jacente devient l'albuginée définitive du testicule.

D'après von Winiwarter et Sainmont, les cordons de Pflüger de l'ovaire se transforment en follicules primordiaux, sans donner lieu toutefois à des ovules primitifs. Un sort identique, lisons-nous dans le travail de ces auteurs, est réservé à tous les ovules et follicules de de Graaf qui dérivent des cordons de Pflüger ou cordons corticaux de la seconde prolifération. Les uns des ovules ne dépassent pas le stade de follicule primordial, les autres se transforment en follicules de de Graaf plus ou moins volumineux, néanmoins le résultat est le même : leur ensemble est voué à la mort.

C'est aux dépens de colonnes cellulaires provenant d'une *troisième prolifération* de l'épithélium germinatif, que se formeront la zône corticale définitive et les œufs définitifs de l'adulte. Les œufs définitifs du Chat, d'après ces auteurs, sont des formations exclusivement post-foetales.

Nous nous sommes étendu assez longuement sur les recherches de von Winiwarter et Sainmont pour deux motifs. D'abord, parce que les observations des auteurs belges concordent avec ce que nous avons observé nous même, dans le développement du testicule. Ici encore, plusieurs générations d'éléments, désignés sous le nom d'*ovules mâles*, disparaissent avant l'établissement de la spermatogenèse proprement dite (Popoff. 1909). Ensuite, parce que l'ovaire de la Taupe passe lui aussi, au cours de son développement, par plusieurs stades. D'après nos observations, les cordons médullaires apparaissent chez l'embryon de Taupe, à la suite d'une première prolifération de l'épithélium germinatif, aussi bien que chez le Chat. Leur destinée n'est cependant pas la même. Les cordons médullaires de la Taupe persistent toute la vie dans l'épaisseur de la glande interstitielle, qui est, comme nous le savons, séparée de l'ovaire proprement dit, par une capsule du péritoine. Les follicules dérivés de ces cordons, appelés *médullaires*, ne fournissant presque jamais d'ovules, sont formés de cellules actives, présentant souvent des cinèses, tandis que les cellules interstitielles, très nombreuses entre ces follicules, ne se divisent jamais.

Les ovules définitifs dérivent d'une nouvelle prolifération de l'épithélium germinatif. La glande génitale femelle se forme

donc au moins en deux temps : un premier, pendant lequel prend naissance la substance médullaire ou glande interstitielle, et un second réservé exclusivement à la portion ovigère. Seul le *rete ovarii*, qui persiste toute la vie dans le segment externe (interstitiel) de l'ovaire de la Taupe, dérive de la partie sexuelle du corps de Wolff.

Embryons de Taupe de 3 mm. — Les plus jeunes embryons que nous avons eus à notre disposition mesuraient 3 mm. en ligne droite. Des coupes transverses, colorées à l'hémalun-éosine, montrent un corps de Wolff composé de plusieurs canalicules (6 à 7), en rapport avec un riche réseau capillaire. Il n'y a pas encore de vrais glomérules entourés d'une capsule de Bowmann. Le rein définitif fera son apparition dans les stades plus avancés. Beaucoup de cinèses se voient dans l'épithélium coelomique qui recouvre le corps de Wolff. On peut déjà reconnaître l'épithélium germinatif par l'aspect de ses éléments : les cellules sont plus volumineuses, plus hautes et par places disposées en deux rangées. Dans l'épaisseur du mésentère, à côté du rein primitif, il y a aussi des cellules arrondies, de grande taille, montrant souvent des cinèses.

Entre la face profonde de l'épithélium germinatif et les canalicules du corps de Wolff, se trouvent de grosses cellules globuleuses, à contours réguliers, avec un noyau arrondi, situé excentriquement, et un corps protoplasmique rempli de boules plus ou moins volumineuses, fortement colorées. N'ayant pas traité les préparations par l'acide osmique, nous ne savons pas si le protoplasme de ces cellules renferme des gouttelettes graisseuses. Des éléments analogues ont été décrits par Loisel (1904) chez l'embryon de Poulet. D'après cet auteur, ce sont des ovules primordiaux, chargés de globules graisseux. Il en a trouvé non seulement dans l'épithélium germinatif, mais encore dans le tissu mésodermique sous-jacent, dans le voisinage du canal de Wolff, dans le mésentère et, du côté de la queue surtout, jusqu'au voisinage des cellules endodermiques. Celles-ci renferment des globules vitellins se colorant également en noir par l'acide osmique. Nussbaum (1901) a vu, chez l'embryon

de Poulet, des cellules analogues émigrer de la splanchnopleure vers l'épithélium germinatif et entrer dans l'éminence génitale où elles vont se multiplier par division caryocinétique. Nous admettons l'existence de ces éléments chez les jeunes embryons de Taupe, mais ils disparaissent dans les stades plus avancés, et bien que nous ne puissions nous prononcer sur leur signification réelle, nous ne saurions admettre qu'ils donnent lieu à des ovules.

Embryons de Taupe de 4 $^1/_2$ mm. — Chez l'embryon de ce stade, le corps de Wolff est sensiblement plus gros ; on y voit des glomérules très bien développés, entourés d'une capsule de Bowmann. L'épithélium germinatif est plus épais, il se continue insensiblement avec celui du mésentère. Par place, le feuillet externe de la capsule de Bowmann s'accole à l'épithélium germinatif, mais il est facile de distinguer ces deux formations, par l'aspect très différent de leurs noyaux : très aplatis dans la capsule de Bowmann, ils sont, au contraire, volumineux et arrondis dans l'épithélium germinatif.

L'éminence sexuelle n'est pas encore appréciable.

Embryons de Taupe de 7 mm. — Les embryons, fixés dans le liquide de Zenker, présentent sur les coupes une éminence génitale assez prononcée. De forme ovoïde, appendue au côté ventral du corps de Wolff, large de 180 μ., cette éminence est composée d'un grand nombre de cellules très serrées, sans limites bien distinctes. Cette formation ne renferme pas de vaisseaux propres ; la nutrition se fait sans doute aux dépens des vaisseaux du rein primitif.

Dans la partie profonde de la glande génitale encore indifférente, on distingue des cordons irréguliers de cellules, dont beaucoup en voie de division. Le stroma est représenté par quelques noyaux aplatis, allongés, incurvés, placés entre les cordons. Ces cordons, issus de l'épithélium germinatif, sont en continuité avec ce dernier. Aucune ligne de démarcation ne sépare ces deux formations.

Ce stade correspond à la période de *première prolifération* de von Winiwarter et Sainmont. Les cordons qui en dérivent

formeront la substance médullaire ou segment externe (interstitiel) de l'ovaire. Leurs éléments ne se transforment pas en ovocytes, mais en follicules d'une nature spéciale, aux dépens desquels se développeront des cellules interstitielles. L'ovaire de la Taupe renferme aussi des cellules interstitielles dans sa portion ovigère (segment interne), mais elles apparaissent plus tardivement, à l'âge adulte. Nous verrons plus loin qu'elles dérivent essentiellement de la thèque des follicules de grandeur moyenne.

Embryons de Taupe de 12 mm. — C'est au stade de 12 mm. qu'on peut le mieux poursuivre l'évolution de la glande génitale. Le sexe est différencié. Des cordons séminifères bien accusés, anastomosés en réseau, caractérisent le testicule, dont la surface est recouverte d'une albuginée bien développée. L'épithélium coelomique qui recouvre la glande génitale mâle est peu élevé et complètement isolé du stroma sous-jacent. Les canalicules séminifères naissent d'une première prolifération de l'épithélium germinatif et ont pour homologues les cordons médullaires de l'ovaire. Dans les embryons du même âge, les testicules sont toujours plus développés (plus volumineux) que les ovaires.

Afin de conserver intacts les rapports de l'ovaire avec les organes voisins, nous avons fixé des embryons entiers dans le liquide de Gilson ou de Bouin et avons fait ensuite des coupes transverses sériées. Au faible grossissement, l'ovaire se présente comme une masse ovoïde appendue au corps de Wolff, auquel il est uni par un pédicule court et large. Son grand diamètre est d'environ 600 μ. et le petit de 400 μ. Une limite très nette sépare la glande génitale du rein primitif. Ce dernier est en régression ; quelques canalicules ont perdu leur lumière, de gros glomérules (larges de 100 μ.) persistent au côté interne, en rapport avec le pédicule de l'ovaire. La capsule de Bowmann, tapissée d'un épithélium aplati, se réfléchit pour envelopper le glomérule correspondant. Contrairement aux recherches de Harz (1883), nous n'avons jamais vu la transformation des éléments de la capsule de Bowmann en cellules interstitielles. La surface de l'ovaire, lisse et unie, est tapissée

d'un épithélium haut de 7 μ., séparé du stroma sous-jacent par une ligne irrégulièrement découpée. Les noyaux arrondis, disposés en une ou deux rangées, sont très serrés. Un épithélium cubique, également serré, recouvre la face antérieure du corps de Wolff, tandis que sa face postéro-externe et le rein définitif, dont une partie fait saillie dans la cavité du coelome, sont revêtus d'un épithélium très aplati, à noyaux espacés. A plusieurs endroits, l'épithélium germinatif se continue directement avec les cordons sous-jacents, dont les noyaux, ainsi que ceux de l'épithélium qui leur a donné naissance, présentent beaucoup de figures caryocinétiques. Le parenchyme de la glande génitale comprend un grand nombre de cordons cylindriques ramifiés, irrégulièrement contournés, disposés en réseaux. Très étroits, d'un diamètre de 25 à 30 μ, ces cordons se composent d'une mince paroi propre et d'un contenu. Celui-ci est représenté par deux sortes d'éléments : des cellules plus volumineuses à gros noyau arrondi, dont plusieurs en voie de division, et des cellules plus petites, à noyau allongé, baignant dans une masse protoplasmique mal délimitée. Le stroma peu abondant, comprend des capillaires sanguins et des cellules conjonctives indifférentes. Par son aspect général, l'ovaire ressemble beaucoup à un testicule rudimentaire.

Embryons de Taupe de 15 mm. — L'ovaire a beaucoup augmenté de volume (750 μ. de diamètre), mais la structure reste sensiblement la même. L'épithélium germinatif est en pleine activité et offre de nombreuses cinèses. Presque dans toute son étendue il est composé de cellules disposées en deux ou trois rangées ; la membrane fine qui le séparait des parties sous-jacentes, est découpée irrégulièrement par les cordons en continuité avec cet épithélium. Au faible grossissement, toute la glande génitale offre le même aspect ; on ne peut pas lui distinguer une substance corticale et une substance médullaire. Elle est encore au stade de première prolifération et n'a par conséquent pas de tubes de Pflüger proprement dits. L'ovaire se détache davantage du corps de Wolff auquel il est uni par un pédicule court et étroit.

Beaucoup de glomérules bien conformés persistent au côté interne du rein primitif. La capsule de Bowmann conserve sa structure normale et dans ce stade aussi, on ne voit aucune participation de ses éléments à la formation de la glande génitale femelle.

On remarque, au sein de l'épithélium germinatif, des cellules plus volumineuses et mieux délimitées que leurs voisines. Une disposition analogue se montre dans l'épaisseur des cordons issus de la première prolifération du dit épithélium. Mais il n'y a pas de follicules proprement dits, composés d'un ovule et de cellules folliculeuses, comme ce sera le cas pour les cordons de la seconde prolifération ou tubes de Pflüger. On peut dire que les cordons primitifs de l'ovaire restent stériles sans aucune tendance à se différencier, du moins pendant ce stade. Nous verrons du reste, que ce ne sont pas ces cordons qui donnent naissance aux ovules primordiaux. Ceux-ci dérivent d'une nouvelle poussée de l'épithélium germinatif, tandis que les éléments des cordons médullaires passent dans la constitution du segment externe ou glande interstitielle de l'ovaire.

Les cellules mésenchymateuses du stroma ont un corps protoplasmique à peine visible pour quelques unes, tandis qu'il est plus appréciable chez d'autres. Leur noyau est proportionnellement volumineux ; il a une forme arrondie ou légèrement allongée. On observe dans le stroma, des globules sanguins qui remplissent complètement la lumière des capillaires, encore étroite. La poche ovarique fait tout à fait défaut ; il n'y a pas non plus de cellules interstitielles reconnaissables.

Embryons de Taupe de 22 mm. — L'ovaire est devenu un peu plus long (850μ), mais en même temps moins large (250μ). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'il change de forme en se développant surtout en longueur. C'est un corps allongé, attaché au rein primitif par un court pédicule, composé uniquement de tissu conjonctif mésenchymateux. L'union entre la glande génitale et la portion sexuelle du corps de Wolff est très intime. Les canalicules de ce dernier pénètrent dans le hile de l'ovaire, au niveau du pédicule, et entrent en contact avec les

cordons de la première prolifération. Dans la portion sexuelle du corps de Wolf se voient encore plusieurs glomérules gorgés de sang et paraissant normaux. L'épithélium de la capsule de Bowmann se réfléchit pour tapisser la surface du peloton vasculaire.

Au faible grossissement, l'ovaire se présente comme une masse uniforme, limitée à la périphérie par une zone plus colorée, l'épithélium germinatif. Ce dernier est constitué par une rangée de cellules cubiques, séparées les unes des autres par un petit intervalle. Cette disposition est mieux accusée chez l'animal adulte. La surface de la glande génitale est lisse et régulière. Il n'y a pas encore de capsule péritonéale. Quelques canalicules du corps de Wolff, emprisonnés dans le tissu ovarien, forment les premières ébauches du rete ovarii, que nous retrouverons dans les stades ultérieurs, ainsi que chez l'adulte.

On ne peut pas déceler la présence de cellules interstitielles proprement dites. Par sa structure et par sa configuration, l'ovaire ne ressemble encore en rien à celui de l'animal adulte.

Embryons de Taupes de 25 mm. — Au stade de 25 mm., la différenciation de la glande génitale est beaucoup plus avancée. L'ovaire mesure, sur la coupe transverse, 460μ sur 630μ et a par conséquent augmenté en épaisseur. Il est, d'ailleurs, parfois difficile de se rendre compte des dimensions exactes de cet organe; les embryons de même longueur offrent à cet égard des écarts assez notables. D'autre part, les agents fixateurs, rétractant plus ou moins les tissus, en modifient le volume.

Le testicule d'un embryon de la même portée, diffère par son volume plus considérable (680μ sur 1020μ) et surtout par sa structure particulière. Les canalicules séminifères sous forme de cordons pleins, larges d'environ 35μ, disposés radiairement par rapport au *rete,* sont séparés par une quantité considérable de cellules interstitielles typiques, particulièrement développées au voisinage du hile. Elles sont caractérisées par leur affinité toute spéciale pour l'éosine, qui les teint en rose-vif. Les contours du corps cellulaire sont précis; celui-ci se

détache très nettement des éléments voisins. Ces cellules se développent aux dépens d'éléments mésenchymateux, très abondants dans le stroma.

La surface de l'ovaire est régulièrement unie, sauf au niveau du pédicule, où elle présente quelques petites saillies, que nous retrouverons dans les stades plus avancés. Mais le fait essentiel, digne d'attirer l'attention, et que l'on remarque sans peine, au premier abord, est l'existence d'une zone corticale et d'une zone centrale ou médullaire, nettement tranchées. La zone médullaire plus développée, mesure 250μ, tandis que la corticale ne dépasse pas 200μ. La zone corticale comprend à son tour une couche externe, l'épithélium germinatif, s'invaginant par places dans l'épaisseur du tissu sous-jacent, pour former les cordons de Pflüger. C'est la période de *seconde prolifération* de Winiwarter et Sainmont. Le tissu mésenchymateux de cette zone est assez lâche et renferme très peu de capillaires.

Au fort grossissement, les cordons de Pflüger nous montrent de jeunes ovules (ovocytes); leur noyau arrondi, possède une membrane bien délimitée, et un nucléole assez gros, fixant fortement les colorants. Le corps ovulaire, pauvre en protoplasma, entre en contact direct avec les cellules folliculeuses, qui sont beaucoup plus nombreuses, mais sans limites précises. La zone corticale entoure la substance médullaire à la façon d'un croissant; elle fait défaut du côté du rete ovarii, qui entre directement en rapport avec le stroma du rein primitif.

La substance centrale ou médullaire, apparaît comme une masse arrondie, enveloppée incomplètement par la zone précédente. Un tissu conjonctif lâche, renfermant quelques vaisseaux sanguins, lui forme une sorte de capsule, qui l'isole à la fois de la substance corticale et du corps de Wolff.

Le rete ovarii, composé de quelques tubes irréguliers, tapissés d'un épithélium prismatique, est bien distinct. Les tubes, terminés en cul-de-sac, ont une lumière assez large et restent indépendants de la substance médullaire. Le pédicule qui unit l'ovaire au corps de Wolff est encore assez large. Le péritoine qui recouvre le pédicule donne naissance à deux petites languettes qui tendent à envelopper l'ovaire ; c'est la première

ébauche de la poche ovarique, dans l'épaisseur de laquelle chemine une partie du canal de Müller. Par sa conformation, la substance médullaire se rapproche beaucoup d'un testicule fœtal. Les cordons médullaires convergent en effet vers le rete ovarii, très accusé dès cette époque, à la manière des canalicules séminifères, qui se dirigent vers le rete testis. Chaque cordon renferme de grosses et de petites cellules, à contours peu précis, surtout pour les dernières. Des cellules interstitielles, encore peu différenciées, se voient dans le stroma. Elles semblent provenir d'un remaniement des cordons médullaires et non pas d'une transformation de cellules mésenchymateuses. En effet, le stroma n'est représenté que par quelques éléments formant une sorte d'enveloppe aux cordons et leurs noyaux, très aplatis, ne présentent point de figures de division. Le segment médullaire de l'ovaire de la Taupe a été considéré par Tourneux, comme un testicule rudimentaire dérivant du corps de Wolff. Les cellules interstitielles qu'on observe dans la trame conjonctive de l'ovaire des mammifères adultes appartiendraient en propre au testicule.

Les recherches de Winiwarter et Sainmont sur la glande génitale du Chat et nos observations sur celle de la Taupe, démontrent que les cordons médullaires dérivent d'une première prolifération de l'épithélium germinatif et non pas du rein primitif. En outre, Winiwarter et Sainmont (1909) ont remarqué et non sans raison, que chez le Chat, les cordons de la première prolifération sont destinés à devenir les cordons médullaires de l'ovaire ou les tubes séminifères du testicule. Une disposition analogue a été aussi observée dans l'ovaire de la Chienne. Les données embryologiques justifient, par conséquent, l'assimilation de la substance médullaire à un testicule rudimentaire.

Remarquons cependant, que les éléments des cordons médullaires, peuvent dans certains cas évoluer en véritables follicules ovariques avec ovule et cellules folliculeuses. La fig. 13 montre un tel cas observé dans l'ovaire d'une jeune Taupe. On peut aussi, semble-t-il, considérer les dits cordons comme des tubes de Pflüger avortés, formés uniquement de cellules folliculeuses, tandis que les ovocytes feraient défaut. Une pareille

interprétation a déjà été donnée par Schulin (1881) à propos de l'ovaire du Chat. Dans tous les cas, le développement de l'ovaire de la Taupe ne permet pas d'admettre la participation des cordons médullaires à la constitution de la paroi des follicules de de Graaf, alors même que ces deux formations arriveraient en contact, comme on l'observe chez la jeune Chienne. Les cordons ovigères (tubes de Pflüger) naissent d'une nouvelle prolifération de l'épithélium germinatif et restent séparés de la substance médullaire par une cloison conjonctivo-vasculaire, bien accusée. La limite est également très nette entre les cordons médullaires et le corps de Wolff ; en aucun moment de la vie embryonnaire, ce dernier n'intervient dans la formation de la substance médullaire ou glande interstitielle. Le *rete ovarii* est le seul vestige persistant du corps de Wolff.

Embryons de Taupe de 31 mm. (fig. 21). Les embryons de ce stade, coupés préalablement en deux, ont été fixés dans le liquide de Bouin. Le train postérieur seul a été débité en coupes sériées.

L'ovaire mesure 0,4 mm., sur 0,8 mm. La portion médullaire, qui était incomplètement entourée par la zone corticale au stade de 25 mm., l'est encore moins au stade de 31 mm. Au faible grossissement, la substance médullaire, arrondie, mesure 340 μ. dans son plus grand diamètre, tandis que la portion corticale, plus développée, présente une largeur de 460 μ.

Structure de la substance corticale. — La substance corticale ou ovigère, seule revêtue par l'épithélium germinatif, comprend à son tour deux zones plus ou moins distinctes : une *superficielle* et une *profonde*. La zone superficielle, plus claire, presque dépourvue de vaisseaux, est composée de colonnes ou amas cellulaires pauvres en protoplasme, en continuité avec l'épithélium germinatif. Ces colonnes représentent sans doute une nouvelle génération de cordons de Pflüger, non encore différenciés en follicules ovariques. La zone profonde, plus foncée, renferme beaucoup plus d'éléments cellulaires, dont quelques uns ont atteint une grande taille, avec un noyau arrondi, large de 15 μ., renfermant un nucléole volumineux,

bien distinct. Ce sont des ovocytes, développés au sein des cordons de Pflüger d'une génération plus ancienne, lesquels cordons se sont enfoncés dans l'épaisseur de la glande génitale, pour faire place à une nouvelle prolifération de l'épithélium. Cette zone est caractérisée encore par sa richesse en capillaires. Le stroma en est si peu développé, que là où il n'y a pas de vaisseaux, les cordons se touchent par leur surface. Les mitoses sont très fréquentes.

A la limite des deux substances, la surface de l'ovaire présente, sur les deux faces, une série de petites saillies (5 à 6 sur la coupe), développées aux dépens de la portion corticale et recouvertes par l'épithélium germinatif (fig. 21). Partout ailleurs, cette surface régulièrement unie, entre en contact avec les divers organes de l'abdomen. Les deux zones que nous avons décrites dans la substance corticale, se pénètrent réciproquement; cependant, les éléments sont plus serrés dans la zone profonde et le protoplasma plus abondant.

L'origine de ces deux zones est la même : elles dérivent d'une prolifération de l'épithélium germinatif; toutefois l'une est plus ancienne que l'autre. C'est à leur place que va s'édifier la future portion ovigère de la glande génitale. Beaucoup de tubes de Pflüger de la zone profonde disparaissent sans se transformer en ovules définitifs. Ces derniers se développeront aux dépens de cordons superficiels, issus plus tardivement de l'épithélium germinatif.

La substance corticale est, pendant toute la vie embryonnaire, dépourvue de cellules interstitielles. Celles-ci ne se montrent que dans la portion médullaire.

Structure de la substance médullaire. — Cette substance occupe, à peu de chose près, la place qu'elle aura chez l'animal adulte. Elle renferme le *rete ovarii,* est en rapport d'une part avec la zone profonde de la portion corticale, et d'autre part, avec le pédicule qui l'unit au corps de Wolff. On peut toujours reconnaître la substance médullaire par l'aspect de ses éléments et par la présence d'une capsule conjonctive qui l'entoure complètement. Le péritoine qui la recouvre se soulève sur les

deux faces pour former une poche encore incomplète, dans la paroi de laquelle on voit le canal de MÜLLER (oviducte) coupé plusieurs fois. Traversée par un riche réseau capillaire, cette substance est composée de cordons cellulaires très serrés, dont plusieurs découpés en follicules, avec, dans leurs interstices, de nombreuses cellules interstitielles. Celles-ci sont caractérisées par leur noyau arrondi, riche en chromatine et par leur protoplasma abondant, se colorant fortement en rose par l'éosine. L'opinion généralement admise par les auteurs est qu'elles se développent aux dépens de cellules mésenchymateuses embryonnaires; leur origine serait donc conjonctive.

Chez la Taupe, les cellules interstitielles semblent provenir des cordons médullaires. La chose se vérifie facilement chez l'animal jeune, où l'on peut voir tous les passages entre ces deux formations. Il y a, à cet égard, de très grandes différences suivant les espèces. D'après nos observations, la substance médullaire du jeune Chien (âgé de 2 ou 3 semaines), renferme aussi à côté des cordons médullaires, une grande quantité de cellules interstitielles; mais ces dernières se différencient aux dépens d'éléments mésenchymateux, très abondants dans le stroma.

Chez la Taupe adulte, la substance médullaire représente le segment externe ou glande interstitielle, qui dérive par conséquent de l'épithélium germinatif (première prolifération) et non pas du corps de WOLFF.

Embryons de Taupe de 33 mm. — Les embryons de ce stade ont été fixés dans le liquide de ZENKER, après ouverture de la paroi abdominale, pour faciliter la pénétration de l'agent fixateur. La capsule ovarique est plus développée, mais n'entoure pas encore complètement la portion ovigère. La substance médullaire a la même structure que dans le stade de 31 mm. Le corps de WOLFF présente quelques canalicules atrophiés et les glomérules ont totalement disparu. Le segment ovigère dit " *interne* „ est placé en dehors, tandis que le segment interstitiel dit " *externe* „ est tourné en dedans. Une disposition inverse s'observe chez l'adulte. Le changement de

position s'opère après la naissance, à la suite du grand développement des oviductes et des cornes utérines. Dans la description qui précède, les dénominations de segment externe et interne, ont été employées dans le sens qu'elles ont chez l'adulte.

Résumant les observations qui précèdent, nous concluons que les deux portions de l'ovaire résultent de plusieurs proliférations successives de l'épithélium germinatif, sans intervention du corps de Wolff. Seul le *rete ovarii* dérive de ce dernier. Quant à l'origine des cellules interstitielles qui se rencontrent exclusivement dans la substance médullaire (segment externe ou spermatique), elles proviendraient principalement de l'épithélium germinatif (cordons médullaires) et en partie seulement d'une différenciation des cellules mésenchymateuses du stroma.

Dans le testicule, les cellules interstitielles naissent indépendamment des canalicules séminifères, en suite d'une évolution spéciale des cellules conjonctives, très nombreuses chez le fœtus.

Ajoutons que dans l'ovaire de la Taupe adulte, des cellules interstitielles se forment aux dépens de la thèque interne, qui se transforme préalablement en faux corps jaune. Il y a donc chez cet animal une glande interstitielle fœtale et une glande interstitielle adulte.

L'ovaire chez la Taupe jeune.

Taupes de 2 ou 3 mois. — L'ovaire petit, de forme ovoïde, mesure dans son plus grand axe 1,7 mm. Il y a une grande disproportion entre les deux segments : l'externe, de beaucoup plus volumineux (1,5 mm.) est entouré d'une forte capsule conjonctive tapissée par le péritoine, tandis que l'interne petit, recouvert par l'épithélium germinatif, est enfermé dans une poche close (fig. 24). Au côté externe du segment spermatique, immédiatement sous l'enveloppe fibreuse, se voit le *rete ovarii*, dont les canalicules, terminés en cul-de-sac, sont pourvus d'une large lumière.

La glande interstitielle, représentée par la substance médullaire, comprend deux sortes d'éléments : les follicules et les cellules interstitielles (fig. 10 et 11).

Les follicules médullaires se présentent sous la forme de masses arrondies, foncées, entourées de cellules plates. Par places, on reconnaît encore quelques cordons médullaires plus ou moins longs, entourés également d'une membrane nucléée. Les interstices interfolliculaires sont occupés par un réseau vasculaire bien développé et surtout par un nombre considérable de cellules interstitielles. Beaucoup de ces cellules possèdent un noyau si riche en chromatine, qu'il apparaît, au faible grossissement, comme un petit grain noir. Le stroma est réduit à sa plus simple expression. Il se localise çà et là, autour des vaisseaux et dans les territoires curvilignes qu'interceptent les follicules ou les cordons médullaires.

La portion ovigère (segment interne) de la glande génitale (fig. 4), moins développée que la précédente (200 μ de largeur), dépourvue de cellules interstitielles proprement dites, est formée principalement de follicules primordiaux, dont les plus petits mesurent environ 12 μ et les plus gros 45 μ. Le stroma, composé de cellules connectives, est parcouru par un réseau sanguin, plus développé dans les parties profondes, mais moins abondant que dans la substance médullaire. De gros vaisseaux, surtout des veines, s'interposent entre les deux segments.

Les ovaires de jeunes Taupes présentent de grandes variations de structure. Ces différences intéressent exclusivement le segment externe, c'est-à-dire la glande interstitielle.

L'ovaire d'une jeune Taupe sacrifiée le 7 juillet, est caractérisé par une grosse glande interstitielle, entourée d'une véritable albuginée. Cette glande a un diamètre de 1,7 mm., tandis que le segment ovigère mesure à peine 0,3 mm. Au fort grossissement, l'œil est attiré par le grand nombre des cellules interstitielles, fortement colorées en rose par l'éosine ou en jaune par l'acide picrique.

A contours précis, elles se disposent en chaînes régulières ou en nids plus ou moins volumineux, dans lesquels toutes les cellules se juxtaposent et simulent une masse épithéliale. Dans les deux cas, ces éléments entrent en rapport étroit avec un

riche réseau capillaire qui chemine dans un stroma de cellules mésenchymateuses.

La taille du corps cellulaire oscille entre 8 et 12 μ et la forme en est variable : les uns sont quadrangulaires sur la coupe, d'autres polyédriques ; quelques-uns sont presque ronds ; on en voit aussi de très allongés.

Les formations folliculaires offrent un intérêt tout particulier ; elles sont à des stades différents et peu apparentes au faible grossissement. Beaucoup de follicules médullaires sont formés de cellules claires, dont le noyau très petit (3 μ) est en pycnose. D'autres, entourés d'une membrane nucléée, renferment des noyaux volumineux, à chromatine disposée en réseau, identiques à ceux des cellules interstitielles. On peut rencontrer les deux espèces de noyaux dans le même follicule. La fig. 10 en montre deux qui ont la structure du canalicule séminifère du testicule

Dans certains follicules enfin, les cellules semblent se dissocier et prendre les caractères des formations interstitielles.

Il y a des cas où follicules et cellules interstitielles se pénètrent à tel point, qu'il est impossible d'en déceler les limites.

Nous sommes en présence d'un remaniement profond de la substance folliculaire, remaniement qui a pour résultat, semble-t-il, d'engendrer de nouvelles cellules interstitielles. Cette hypothèse se vérifie par l'étude d'autres ovaires, recueillis à la même époque.

La glande génitale d'une jeune Taupe, disséquée le 2 juillet, présente tous les passages entre les follicules médullaires et les cellules interstitielles (fig. 2). Les nombreuses mitoses qui se voient dans les follicules, attestent une multiplication active de leurs éléments. L'absence complète de cinèses dans les cellules interstitielles a engagé les auteurs à les faire dériver de cellules mésenchymateuses indifférentes. Une telle manière de voir ne s'applique pas bien à la Taupe.

L'examen attentif des coupes nous révèle des cellules conjonctives aplaties, disposées sous forme de capsule autour des follicules ou à la surface des amas de cellules interstitielles.

D'autres noyaux allongés, appartiennent aux nombreux capillaires sanguins qui parcourent l'organe. Quelques éléments conjonctifs ramifiés accompagnent les gros vaisseaux, mais nulle part on ne voit la transformation d'une cellule conjonctive du stroma en cellule interstitielle. La glande interstitielle fœtale avec ses follicules et ses colonnes de cellules interstitielles présente beaucoup d'analogie avec la substance corticale surrénale ou avec le lobe antérieur de l'hypophyse. Les cellules sont partout juxtaposées et ne rappellent en rien les organes conjonctifs.

Sans nier la possibilité d'une transformation de cellules mésenchymateuses en cellules interstitielles, fait observé dans le testicule et dans l'ovaire de plusieurs mammifères (Aimé), nous admettons dans le cas particulier de la taupe, que des cellules de ce genre peuvent se développer aux dépens de cordons médullaires épithéliaux.

Le tissu interstitiel de la portion ovigère a une autre signification; issu d'une transformation du faux corps jaune, ce tissu ne se montre que chez l'animal adulte et atteint son plus grand développement pendant la gestation.

Les cellules interstitielles du segment externe de l'ovaire n'ont, paraît-il, qu'une durée assez courte. Regaud et Dubreuil (1906) constatent la néoformation permanente de ces éléments dans l'ovaire du Lapin, contrairement à l'opinion de Limon (1901) qui considère les cellules interstitielles une fois établies, comme définitives. Chez une jeune Taupe sacrifiée le 7 juillet, de gros follicules médullaires, dont plusieurs en cinèse, plongés dans un riche réseau vasculaire, forment la plus grande partie du segment externe. Les cellules interstitielles sont rares. En revanche, un examen attentif nous montre beaucoup de follicules complètement remaniés. Un grand nombre de leurs éléments ont subi la transformation interstitielle. Tandis que dans un follicule au repos, les cellules constituantes, pauvres en protoplasme, sont mal délimitées, dans le cas particulier, on distingue à l'intérieur du follicule, des cellules à protoplasma abondant, éosinophile et à contours très précis.

L'ovaire d'un autre sujet, à peu près du même âge (à en juger d'après la grosseur des follicules ovariques) nous montre un segment externe composé de follicules et de cellules interstitielles se pénétrant réciproquement, formant une masse uniforme, d'aspect épithélial. On voit aisément tous les passages intermédiaires entre ces deux formations. Le développement extraordinaire des vaisseaux sanguins est manifestement en rapport avec la grande activité de ce tissu; peut-être joue-t-il aussi un rôle dans l'élimination des vieux éléments, reconnaissables à leur noyau en pycnose.

Structure du segment interne ou ovigère (fig. 4). — La substance ovigère d'une Taupe jeune, disséquée le 7 juillet, est composée essentiellement d'un grand nombre de petits follicules primordiaux; quelques-uns contenus dans l'épithélium germinatif, déterminent une légère saillie à la surface de l'ovaire. L'épithélium germinatif se réfléchit au niveau de la portion médullaire, pour se continuer avec le revêtement endothélial qui tapisse la poche ovarique, complètement fermée.

Les follicules superficiels mesurent 18 μ de diamètre, tandis que les profonds, situés au voisinage du segment externe, sont plus gros et ont un diamètre de 100 μ, dont 80 μ pour l'ovule seul. La vésicule germinative a 12 μ dans les premiers et plus de 22 μ dans les seconds. La portion ovigère est longue de 600 μ ; la portion médullaire, plus développée, mesure 1360 μ.

La granulosa des gros follicules comprend une seule rangée de cellules assez hautes, à noyaux ovoïdes, très rapprochés. Une mince membrane basale sépare cette couche de la thèque, qui est formée de trois assises de cellules : une interne, à noyaux petits et très aplatis, appliquée contre la face externe de la membrane vitrée ; une moyenne, à cellules plus grosses, dont les noyaux arrondis sont entourés d'une mince couche de protoplasma, légèrement éosinophile ; une externe, composée de petites cellules plates identiques à la première. Entre les cellules de l'assise moyenne se voient un grand nombre de capillaires, très étroits mais gorgésde sang. Quelques cellules conjonctives du stroma accompagnent les vaisseaux. La portion

ovigère est encore dépourvue de cellules interstitielles proprement dites.

La limite entre les deux segments de l'ovaire est effacée par places; des follicules s'enfoncent en pleine substance médullaire et, inversement, les cordons médullaires pénètrent entre les gros follicules. Chez une jeune Taupe, on voyait au voisinage du segment médullaire beaucoup de follicules de DE GRAAF en voie de régression. L'ovule est flétri, une substance vacuolaire remplace le protoplasme, tandis que les cellules de la granulosa et de la thèque, restées normales, se confondent insensiblement avec le tissu de la portion interstitielle. La granulosa semble se transformer en follicules médullaires, et les cellules de la thèque en éléments interstitiels. Nous pensons que tous les follicules profonds, — qui se sont différenciés les premiers dans les tubes de PFLÜGER — dégénèrent chez le jeune animal et que, à leur place et peut-être aux dépens de leurs éléments, se forme du nouveau tissu interstitiel. Celui-ci vient s'ajouter à celui qui existe dans la substance médullaire. Ayant admis que les cordons médullaires et les tubes de PFLÜGER ont une origine commune, nous pouvons admettre également que des cellules interstitielles dérivent des uns et des autres. Le fait que la granulosa, organe essentiellement épithélial, se transforme en vrai corps jaune ayant tous les caractères d'un tissu conjonctif, est aussi en faveur de cette manière de voir.

LOISEL admet l'origine identique des cellules interstitielles et des cellules folliculeuses qui forment la granulosa. Beaucoup d'hypothèses ont été émises sur l'origine des cellules folliculeuses.

HIS les fait dériver des cellules migratrices.

HARZ en fait une dépendance de l'ovule invaginé dans le stroma.

Pour WALDEYER, HERTWIG, NAGEL, elles émanent, comme les ovules, des cellules de l'épithélium germinatif.

FOULIS (1876) fait dériver les cellules folliculeuses des cellules étoilées du stroma conjonctif.

Beaucoup d'auteurs les font provenir des cordons médullaires, dépendances du rein primitif (KÖLLIKER, TOURNEUX, SEMPER).

La question n'est pas définitivement résolue ; toutefois, par analogie avec ce que nous savons du développement de la glande génitale mâle, il est plus logique d'envisager ces éléments comme ayant la même origine que les ovules. L'opinion de Waldeyer, qui fait provenir les cellules folliculeuses de l'épithélium germinatif, nous paraît la plus admissible.

L'ovaire chez la Taupe adulte.

Des ovaires de Taupes adultes ont été recueillis depuis le mois de février, jusqu'à la fin du mois de juillet. C'est principalement en mars et avril que l'on rencontre le plus de Taupes portantes. La gestation dure chez ces animaux environ 29 jours ; la Taupe nouveau-née mesure 35 mm.

L'ovaire est composé de deux segments : un interne (substance corticale), seul ovigère, renfermé dans une poche close, et un autre externe, représentant la glande interstitielle (segment spermatique, substance médullaire), dans laquelle se trouve le *rete ovarii*.

Structure du segment externe. — Le segment externe est le siège de changements considérables aux différentes époques de l'année. Il atteint son maximum de développement en février, c'est-à-dire peu de temps avant la gestation. C'est une masse globuleuse, large de 6 mm., enveloppée d'une épaisse membrane conjonctive, véritable albuginée, qui envoie des septa à l'intérieur, le long desquels cheminent les vaisseaux sanguins, et qui forme une trame assez dense au *rete ovarii*, (analogie avec le corps d'Highmore du sexe masculin).

Au faible grossissement, on reconnaît les follicules médullaires à leur teinte d'un violet-lilas, tandis que les cellules interstitielles sont d'un rose vif ou jaune, après coloration dans l'éosine ou l'acide picrique. Les follicules (fig. 25) sont tantôt isolés, formant de petits îlots arrondis au sein de la masse interstitielle, tantôt groupés en petits amas, à contours irréguliers. Quelques uns sont allongés, en forme de cordons droits, d'autres enfin se disposent en croissant et même en anneau complet. Leur structure est partout la même, une couronne de noyaux arrondis,

riches en chromatine, délimitant un petit champ circulaire rempli d'un protoplasma granuleux, sans territoires cellulaires bien nets. Chaque follicule est en outre entouré d'une mince membrane nucléée. Les cinèses, très fréquentes dans les follicules médullaires de l'ovaire impubère, deviennent extrêmement rares chez l'animal adulte.

Les cellules interstitielles sont très nombreuses. Le corps cellulaire, de forme variée, renferme un noyau sphérique (3 μ) qui paraît comme un petit grain homogène, tant la chromatine est dense, tandis que les noyaux des follicules, plus gros (6 μ) montrent un réseau nucléaire bien distinct avec un nucléole éosinophile. Aucune des cellules interstitielles que l'on a par milliers dans le champ du microscope ne présente des signes de division directe ou indirecte.

Immédiatement en dessous de l'albuginée, surtout au voisinage des vaisseaux sanguins, se voient quelques petites cellules interstitielles isolées ou disposées en chaînettes, se confondant avec les éléments du stroma. Leur origine aux dépens d'une autodifférenciation de cellules mésenchymateuses paraît presque certaine. Elles ont, par leur configuration, de grandes ressemblances avec les Plasmazellen que l'on rencontre dans beaucoup d'organes et en sont peut-être une variété.

L'ovaire d'une autre Taupe, non portante, tuée le 25 février, montrait également un nombre considérable de cellules interstitielles, mais avec le noyau en pycnose. Par places, les follicules se groupent pour former des îlots volumineux, très vascularisés. Les noyaux des cellules interstitielles emprisonnées dans ces îlots, ont exactement la même structure que ceux des follicules. Ils sont plus gros et montrent un réseau chromatique bien visible avec un petit nucléole. Les cellules à noyaux pycnotiques doivent être considérées comme vouées à la mort. Elles seront remplacées par d'autres, plus jeunes, plus actives, provenant d'une nouvelle génération, développée aux dépens des follicules médullaires, des faux corps jaunes ou des éléments du stroma.

Les ovaires de Taupes capturées en mars, sont intéressants à plusieurs égards. Les uns ont beaucoup de follicules de de Graaf mûrs ; quelques-uns montrent des follicules rompus, avec

l'ovule dans l'intérieur de la poche ovarique ; d'autres enfin, offrent plusieurs vrais corps jaunes et des morules dans la trompe. Presque tous les ovaires renferment un grand nombre de follicules en voie d'atrésie, ainsi que des faux corps jaunes, transformés plus oumoins en tissu interstitiel.

Le segment externe (glande interstitielle) de l'ovaire est encore très développé chez une Taupe non portante, disséquée le 6 mars. Dans la portion ovigère se voient des follicules de de Graaf mûrs, avec une granulosa en voie de transformation lutéine. Au faible grossissement on n'observe dans le segment externe que les follicules médullaires disposés en ilots plus ou moins volumineux, séparés par un stroma conjonctivo-vasculaire bien accusé. Le *rete ovarii*, refoulé dans la partie externe, est isolé du tissu ambiant par une capsule conjonctive bien développée ; ses canalicules, terminés en cul-de-sacs, n'offrent aucun rapport avec les éléments de la substance médullaire. Au fort grossissement, l'aspect est différent suivant les régions considérées. Au voisinage du *rete*. les cellules interstitielles font presque défaut. Leur nombre augmente en se rapprochant de la substance ovigère. Elles se présentent sous deux formes principales : les unes petites, avec un noyau rond à chromatine très condensée (synapsis) et un corps protoplasmique mal délimité, se colorant faiblement ; les autres plus grosses, mais beaucoup moins nombreuses, nettement délimitées, à noyau plutôt irrégulier, à protoplasme d'une structure alvéolaire très prononcée. Ces dernières cellules occupent principalement l'épaisseur du stroma, et nous n'en avons pas rencontré, du moins sous le même aspect, dans les stades précédents. Elles ressemblent en tous points aux cellules interstitielles du testicule. Au voisinage de la substance corticale et même dans son épaisseur se voient des follicules médullaires et des cellules interstitielles typiques, développés probablement aux dépens de follicules atrésiques du segment ovigère.

L'ovaire d'une Taupe adulte, avec quelques follicules de de Graaf rompus, (l'ovule entouré du disque proligère se trouvait dans l'intérieur de la poche ovarique) présente un segment externe très développé. Après coloration à l'hémalun-éosine,

les cellules interstitielles forment un vaste champ rose, dans lequel sont disséminés, à intervalles irréguliers, de nombreux follicules teints en violet. De gros vaisseaux sanguins parcourent ce champ dans toutes les directions. Dans l'épaisseur de la capsule conjonctive de la glande interstitielle se voient quelques vésicules closes, ciliées, restes du corps de Wolff. L'ovaire de ce stade présente une autre particularité intéressante. Les deux segments se pénètrent réciproquement sans délimitation précise. La substance folliculaire de la portion médullaire s'avance très loin dans le segment ovigère, pouvant même atteindre l'épithélium germinatif. La substance médullaire grossit manifestement aux dépens de la portion corticale. Le mode de formation du tissu interstitiel qui apparaît dans la substance ovigère sera étudié plus loin. Disons cependant, que les nombreux faux corps jaunes de cette substance se transforment en tissu interstitiel, au sein duquel se développent aussi des formations folliculaires qui s'ajoutent à celles de la portion médullaire. Il y a donc un renouvellement continuel de la glande interstitielle.

Taupe adulte au début de la gestation. — Ce stade est reconnaissable par la présence de morules dans l'oviducte et par l'apparition de vrais corps jaunes, renfermant encore dans leur centre une vaste cavité. La cicatrice occasionnée par la rupture du follicule mûr, se voit dans le pôle superficiel du corps jaune. Le nombre des cellules interstitielles semble avoir diminué, les follicules médullaires paraissent plus rapprochés et plus nombreux. Les cinèses sont très rares dans les follicules et font totalement défaut dans les cellules interstitielles.

Taupe portante, embryon de 3 mm. — Les follicules médullaires se sont de plus en plus rapprochés à la suite d'une diminution sensible des cellules interstitielles. La diminution de ces éléments ne doit pas beaucoup modifier le fonctionnement de l'ovaire ; les vrais corps jaunes étant mieux développés, il s'établit, pensons-nous, une sorte d'équilibre dans la sécrétion interne de la glande.

Au niveau de la portion ovigère, les follicules médullaires plus volumineux, mais irréguliers de forme, sont séparés par un plus grand nombre de cellules interstitielles. Cette partie du segment externe de l'ovaire a certainement une autre origine. Tandis que du côté du *rete*, follicules et cellules interstitielles se développent déjà chez l'embryon, aux dépens de cordons issus de l'épithélium germinatif, les mêmes formations situées plus profondément apparaissent seulement chez l'adulte et leur genèse nous est connue. Elle prennent naissance ensuite d'un remaniement des faux corps jaunes de la substance corticale.

Le segment externe comprendrait ainsi, chez l'animal adulte, la glande interstitielle foetale d'une part, et un tissu analogue, développé aux dépens de la portion ovigère d'autre part.

Taupe portante, embryons de 15 mm. — Le segment externe est proportionnellement assez développé. A la limite des deux portions de l'ovaire, on assiste à la transformation graduelle des faux corps jaunes en tissu interstitiel. Les corps jaunes de la grossesse, volumineux, arrondis, bien circonscrits, s'engagent en partie dans l'épaisseur du segment externe, se mettant ainsi directement en contact avec les follicules médullaires. Beaucoup de faux corps jaunes, ainsi que plusieurs follicules ovariques atrésiés, font de même ; il en résulte que la limite très nette qui sépare extérieurement les deux segments, s'efface de plus en plus à l'intérieur de l'organe.

A la surface des gros follicules de de Graaf, situés profondément, on voit des cordons cellulaires, bien délimités, se continuer insensiblement avec les follicules de la substance médullaire. Des cordons de ce genre se rencontrent également entre les follicules primordiaux (fig. 5). Ils contribuent, croyons-nous, avec les faux corps jaunes, à l'élaboration du tissu interstitiel de la portion ovigère.

Taupe portante, embryons de 31 mm. — Au faible grossissement, la glande interstitielle paraît comme une masse de structure uniforme. La substance folliculaire très développée masque les formations interstitielles. Ces dernières se présentent sous

un nouvel aspect ; le noyau au lieu d'être petit, en pycnose, est au contraire volumineux, à réseau nucléaire bien apparent, renfermant un nucléole éosinophile. Une mince couche de protoplasme, à contours mal définis, entoure le noyau. Par-ci par-là, on voit d'autres éléments interstitiels, d'une nature spéciale, à corps cellulaire plus grand et nettement circonscrit, dont le protoplasme, d'une structure alvéolaire, reste coloré en *jaune vif* après fixation dans le liquide de Bouin et coloration à l'hémalun-éosine.

Des éléments analogues, colorés en jaune, se rencontrent, quoique en petit nombre, dans la substance ovigère. On ne doit pas les confondre avec les cellules interstitielles proprement dites qui sont colorées en rose dans les mêmes préparations.

La substance folliculaire a aussi changé et présente une autre configuration. Au lieu de petits corps arrondis, disséminés dans l'aire interstitielle, nous sommes plutôt en présence de cordons irréguliers, plus larges que les follicules, composés d'un grand nombre de noyaux ovoïdes, baignant dans un protoplasme commun, sans territoires cellulaires appréciables. Tous les noyaux n'offrent pas la même structure ; quelques-uns plus pâles, moins riches en chromatine, ont la plus grande ressemblance avec les noyaux des cellules interstitielles avoisinantes. On peut y observer tous les passages intermédiaires. Par places, les follicules, très serrés, se touchent par leur surface. La membrane nucléée qui les tapisse extérieurement, est cependant toujours reconnaissable. L'ovaire de ce stade est caractérisé encore par l'absence de cinèses, non seulement dans les cellules interstitielles, mais aussi dans les follicules médullaires. Toutefois, ces derniers sont devenus plus nombreux et d'autant plus gros que l'on se rapproche davantage de la substance corticale. Il y a, croyons-nous, une néoformation continuelle des cellules interstitielles et des follicules ; nous admettons le renouvellement de ces éléments aux dépens de la substance ovigère, par dislocation des faux corps jaunes et des cordons épithéliaux.

Des cellules interstitielles peuvent également se former aux dépens du stroma ; les cellules à protoplasma alvéolaire, xan-

thophile, mentionnées plus haut, n'ont probablement pas une autre origine.

Limon nie tout rapport génétique entre les cordons médullaires et le tissu interstitiel, au moins chez les animaux examinés par lui. (Lapin, Rat, Souris, Cobaye, Murin, Taupe, Hérisson). Chez tous ces animaux à l'âge adulte, du tissu interstitiel se développe en effet aux dépens des cellules de la thèque, après que ces éléments se sont différenciés en un organe d'apparence épithéliale, le faux corps jaune.

D'après nos observations chez le jeune Chien, dont l'ovaire présente un système médullaire très développé, les cellules interstitielles naissent dans le stroma de la substance médullaire, par conséquent indépendamment des follicules de de Graaf. Il n'en est pas de même chez la Taupe jeune et le fœtus, où les cordons médullaires subissent un remaniement profond, qui a pour résultat d'engendrer les follicules et les cellules interstitielles. Les faux corps jaunes ne sont pour rien dans la genèse de ces formations, pour la simple raison qu'ils font défaut à cette époque. Il en est autrement dans l'ovaire de la Taupe adulte, où à côté de la glande interstitielle (segment externe), il existe de nombreuses cellules interstitielles dans le segment ovigère, développées cette fois aux dépens de faux corps jaunes. Il faut donc distinguer chez la Taupe, d'une part la glande interstitielle fœtale, méconnue par Limon, d'autre part la glande interstitielle adulte.

Si nous établissons une comparaison entre ce qui se passe dans l'ovaire et dans le testicule, nous voyons que, chez le mâle, d'après les travaux de Bouin et Ancel, la glande interstitielle dure toute la vie sous forme de glande interstitielle fœtale, jeune et adulte. Chez la femelle, du moins chez la Taupe, nous admettons de même l'existence d'une glande intertitielle fœtale et d'une glande interstitielle adulte. L'une et l'autre sont caractérisées par la présence de follicules et de cellules interstitielles proprement dites. Les premiers naissent aux dépens des cordons médullaires de l'embryon ou de cordons analogues observés dans la portion ovigère de l'animal adulte, tandis que les cellules interstitielles proviennent probablement

des follicules médullaires chez le fœtus et des cellules de la thèque (faux corps jaunes) chez l'adulte. Ajoutons que des cellules mésenchymateuses du stroma peuvent également évoluer en formations interstitielles. D'autre part, nous savons que les Solipèdes possèdent une glande interstitielle de l'ovaire uniquement pendant la période fœtale (Aimé); les Rongeurs en ont une à l'âge adulte (Limon); le Chat a une glande interstitielle à l'âge fœtal et à l'âge adulte; enfin quelques Mammifères, l'Homme par exemple, n'en ont point du tout. D'après nos observations, la Taupe et le Chien ont une glande interstitielle à l'âge fœtal et à l'âge adulte. Ces quelques variations suffisent à expliquer le grand nombre d'hypothèses émises par les auteurs au sujet de ces éléments. Les uns n'ont étudié que le tissu interstitiel de l'adulte et d'autres seulement celui du fœtus ou du jeune animal.

Taupe post-partum. — Les cornes utérines présentent des bosses régulièrement espacées, mais flétries, ne renfermant point d'embryons. Sur des coupes, on voit dans la portion corticale de l'ovaire, un vrai corps jaune en voie de régression. Le segment externe, formé essentiellement de follicules médullaires, est moins développé que dans les stades précédents. Les cellules interstitielles, proportionnellement moins nombreuses, ont perdu, pendant la gestation, beaucoup de leurs éléments.

Nous avons, au cours de ces recherches, observé chez une Taupe portante, tuée en avril, de nombreuses figures caryocinétiques dans des cellules interstitielles paraissant normales, offrant un noyau assez volumineux et un protoplasme abondant. Les follicules médullaires et la masse interstitielle, si distincts dans l'ovaire en février, se confondaient à tel point, qu'il etait difficile, même au fort grossissement, de les reconnaître; nouvelle preuve que la glande interstitielle est, aux différentes époques de la vie, le siège de profondes modifications.

Taupe adulte, non portante. — Le segment externe de la glande génitale, fixée le 7 juillet, est de nouveau très développé. Les follicules médullaires sont séparés par un grand

nombre de cellules interstitielles, à protoplasme nettement alvéolaire, fixant énergiquement les matières colorantes. Des amas de cellules interstitielles se voient également dans la portion ovigère. Les follicules très petits, circonscrits par une mince membrane nucléée, ne mesurent que 15 à 30 μ de diamètre. Chacun comprend sur la coupe 7 à 8 noyaux ovoïdes, avec un nucléole éosinophile, délimitant une aire circulaire, remplie d'un protoplasma granuleux On distingue deux variétés de cellules interstitielles : les unes avec un très petit noyau (3 μ) en pycnose, placé excentriquement, faisant saillie à la surface, d'autres, à noyau plus gros (6 μ) normalement conformé. Il y a des intermédiaires entre ces deux formes.

Tous les follicules ne présentent pas non plus la même structure. Tandis que les uns sont composés d'une seule espèce d'éléments, à noyaux arrondis riches en chromatine, d'autres renferment en plus des cellules avec un petit noyau en pycnose. Quelques follicules présentent de grosses cellules à contour précis et des éléments à noyau plus petit, plus foncé ; l'ensemble offrant de grandes analogies avec la coupe d'un canalicule séminifère fœtal. Il y a, enfin, des follicules dans lesquels les éléments constituants prennent les caractères des cellules interstitielles. De même que les cellules de la granulosa peuvent, dans certaines circonstances, subir la transformation lutéine, nous croyons, en ce qui concerne la Taupe, à la formation de tissu interstitiel aux dépens de cordons médullaires.

De l'étude du segment externe de l'ovaire chez la Taupe jeune et chez la Taupe adulte, nous retiendrons les points suivants : Les follicules médullaires de l'ovaire impubère sont gros, bien délimités et présentent beaucoup de cinèses ; celles-ci font défaut dans les mêmes formations de l'animal adulte. Les cellules interstitielles ont chez le jeune animal, des noyaux plus gros, à réseau chromatique très net et un nucléole éosinophile. Chez l'adulte, le noyau est souvent pycnotique, à chromatine condensée en un petit grain foncé fortement coloré et dépourvu de nucléole. Le tissu interstitiel très abondant en février, diminue considérablement vers la fin de la gestation. Il est de nouveau très développé en été, à cause du grand nombre de faux corps

jaunes qui en produisent sans cesse. Le tissu interstitiel subit donc au cours de la vie des changements quantitatifs appréciables. Beaucoup de cellules dégénèrent et sont remplacées par des éléments nouveaux qui auront également une existence temporaire.

La glande interstitielle fœtale persiste chez l'adulte, mais il est probable que tous ses éléments ont été remplacés par d'autres, développés dans la substance corticale. La glande interstitielle fœtale dérive des cordons médullaires, tandis que celle de l'adulte se forme aux dépens d'un remaniement des faux corps jaunes avec la participation des cordons cellulaires spéciaux, observés dans la substance ovigère.

Structure de la substance corticale et formation des corps jaunes.

La substance corticale ou ovigère, dénommée encore segment interne, est caractérisée par la présence de follicules de de Graaf à tous les degrés de développement, de faux corps jaunes et à certaines époques de l'année, de quelques vrais corps jaunes. Nous avons observé, en outre, des cordons épithéliaux particuliers, analogues aux cordons médullaires de l'embryon et qui participent, croyons-nous, à la formation du tissu interstitiel de la substance corticale. Examinons successivement ces diverses parties de l'ovaire.

Follicules ovariques. — Au faible grossissement, on reconnaît des follicules primordiaux, des follicules de de Graaf plus ou moins mûrs et des follicules en voie de régression. Le processus d'atrésie diffère suivant les cas considérés. Beaucoup de follicules par exemple, dégénèrent sans laisser de trace.

La dégénérescence hyaline est la plus fréquente. L'ovule et la granulosa se transforment en une masse homogène, réfringente, fixant fortement les colorants, qui se détache de la thèque et ne tarde pas à disparaître complètement. Dans d'autres cas, plutôt rares, la zone pellucide devient très épaisse, se plisse sur elle-même et prend la place de l'ovule dégénéré, tandis que les cellules de la granulosa, à noyau riche en chro-

matine, s'agencent sous la forme de cordons irréguliers qui semblent se continuer avec les follicules médullaires. Il n'y a aucune différence de structure entre ces deux formations et on peut admettre l'origine de quelques follicules de la glande interstitielle, aux dépens de la granulosa avortée. Cette manière de voir paraît d'autant plus justifiée, que les éléments de la granulosa peuvent évoluer en vrais corps jaunes, qui présentent la plus grande analogie avec le tissu interstitiel.

C'est en février et en mars, par conséquent avant la gestation, que nous avons observé le plus de follicules atrésiés, jusqu'à vingt et même d'avantage sur la même coupe. Généralement ce sont les follicules profonds, de taille moyenne, en rapport avec la substance médullaire, qui sont envahis les premiers par la dégénérescence. Les follicules superficiels, différenciés plus tardivement dans les cordons de Pflüger, gardent plus longtemps leur aspect normal et plusieurs arrivent à maturité.

D'autres follicules de de Graaf, plus volumineux, subissent au cours de leur régression des modifications autrement importantes. A leur place s'édifie par un processus spécial, un faux corps jaunes qui se transforme en tissu interstitiel de la substance corticale. C'est pendant la gestation que le tissu interstitiel présente le maximum de développement et c'est dans cette période que nous l'étudierons surtout.

Plusieurs follicules de de Graaf évoluent simultanément en faux corps jaunes. Ce phénomène s'observe principalement dans des follicules en voie d'accroissement, avec peu de liquide folliculaire. Les premiers changements commencent à se manifester dans la thèque. Cette membrane, richement vascularisée, s'épaissit. Les cellules qui la constituent se groupent en nids plus ou moins volumineux, séparés par des capillaires et par de gros noyaux clairs. Leur corps cellulaire bien délimité, renferme un petit noyau sphérique, à chromatine très condensée, ne présentant aucun signe de mitose ou d'amitose. Là où les follicules empiètent sur la substance médullaire, les cellules de la thèque hypertrophiée se continuent sans ligne de démarcation précise avec les cellules interstitielles de la portion médullaire,

et offrent exactement les caractères de celles-ci. Nous insistons sur cette particularité parce qu'elle montre encore une fois les relations étroites qui existent entre les deux segments de l'ovaire. La thèque s'épaissit surtout de dehors en dedans, au détriment de la granulosa qui entre en régression ; le follicule, en conséquence, n'augmente presque pas de volume.

La granulosa est le siège de modifications profondes et variées. Dans beaucoup de cas, les cellules qui la composent s'espacent, perdent le type cylindrique et prennent une forme arrondie. Ailleurs, la membrane cellulaire disparaît, le protoplasme se décompose en gouttelettes, dispersées entre les noyaux devenus libres ; la granulosa forme dans son ensemble une couche claire autour de l'ovule qui (même au faible grossissement) se distingue facilement de la thèque épaissie, à protoplasme abondant et foncé. Le noyau ne résiste pas à la dégénérescence. Tantôt la chromatine se dispose en petites boules qui se trouvent libérées dans le protoplasma par suite de la disparition de la membrane nucléaire, ou bien elle se condense en une seule masse irrégulière, homogène.

La fig. 8 nous montre une granulosa transformée en une sorte de tissu réticulé, constitué par des cellules ramifiées, anastomosées. L'existence de ce tissu a été signalée par Slaviansky et par Rabl, qui lui ont attribué une origine extrinsèque à l'ovisac. Mulon (1908), qui a étudié ce tissu, le considère avec raison, croyons-nous, comme une partie modifiée de la granulosa.

Les cellules de la granulosa peuvent subir la dégénérescence pigmentaire. Elles se chargent d'un pigment jaunâtre et persistent sous cette forme dans le centre du follicule atrésique, à la place de l'ovule disparu. Les faux corps jaunes en renferment aussi (fig. 14) et après leur transformation en tissu interstitiel, des cellules pigmentaires se voient disséminées dans toute la substance corticale. Mulon a fait une constatation analogue dans l'ovaire du Cobaye.

Nous serons bref sur la régression de l'ovule, ce phénomène ayant fait l'objet de nombreux travaux (Flemming, Paladino, Schottländer, Henneguy, etc.)

C'est généralement après que la granulosa a été plus ou moins altérée par la régression, que des signes de dégénérescence se montrent dans l'ovule. Le résultat est toujours le même : mort et disparition totale de l'ovule.

Parmi les modes variés de régression ovulaire, nous mentionnerons celui qui consiste dans la présence de plusieurs vésicules germinatives au sein du vitellus indivis (fig. 7 et 8) ou divisé en autant de blastomères (fig. 9). On peut considérer la division de la vésicule germinative comme un commencement de développement parthénogénétique (observé par Limon chez le Lapin et A. Aimé chez le fœtus de Cheval). L'ovule arrive à un état de maturité prématurée, qui se traduit par la transformation de la vésicule germinative en plusieurs noyaux fils. L'impulsion donnée au protoplasma par la division du noyau persiste pendant un certain temps et amène la division du vitellus, mais cette division a lieu d'une manière irrégulière et la segmentation normale est remplacée par une fragmentation désordonnée.

Quelques auteurs considèrent ces noyaux comme des globules blancs phagocytant l'œuf du follicule en atrésie. Les travaux de Löwenthal, Henneguy, Van der Stricht contiennent beaucoup de renseignements sur le rôle des leucocytes dans l'évolution des follicules de de Graaf et des tubes de Pflüger.

D'après nos observations chez la Taupe, où l'on rencontre un grand nombre d'ovules à plusieurs vésicules germinatives, il ne peut pas être question d'une segmentation parthénogénétique, par le fait que le vitellus plus ou moins altéré, reste le plus souvent indivis ; il ne s'agit pas non plus de leucocytes dévorant l'œuf malade, puisqu'on n'en voit point dans la granulosa et même dans la thèque. Nous avons vu un nombre considérable de leucocytes éosinophiles dans l'ovaire d'une Taupe qui avait de nombreux parasites. Nous pensons plutôt à un processus de dégénérescence par fragmentation, décrit par Schulin, Janosik, Henneguy, P. Bouin.

Après la disparition de l'ovule, le follicule de de Graaf n'existe plus et la formation qui le remplace a été désignée sous le nom de " *corps jaune atrétique* „ (Kölliker, Van der

Stricht) ou *faux corps jaune* (Bouin). Le faux corps jaune, développé aux dépens de la thèque, ne dépasse pas le volume du follicule dans lequel il a pris naissance ; il subit même une légère diminution ensuite de la disparition de la granulosa et de l'ovule. Les corps jaunes atrésiques ont une destinée spéciale : après avoir subi quelques modifications, ils se transforment en tissu interstitiel de l'adulte. Ils perdent d'abord leur forme arrondie, la thèque externe qui leur formait une enveloppe se désagrège de plus en plus ; la masse finement granuleuse, qui occupe leur centre avec quelques cellules pigmentaires dérivées de la granulosa, disparaît à son tour.

Dans ce tissu interstitiel qui se développe aux dépens du faux corps jaune, apparaissent aussi les formations folliculaires qui caractérisent le segment externe de l'ovaire. Les cordons cellulaires (fig. 5) que nous avons observés dans la substance corticale de la glande génitale adulte, contribuent probablement à leur formation. Dans d'autres cas, la granulosa de quelques jeunes follicules de de Graaf persiste après la mort de l'ovule, sous la forme d'amas cellulaires, analogues aux cordons médullaires. La substance folliculaire du tissu interstitiel proviendrait dans les deux cas de formations épithéliales. Cette hypothèse concorde avec ce que nous avons démontré au sujet de l'origine du segment externe de l'embryon de Taupe. Il y a ici encore des cordons issus de l'épithélium germinatif transformés secondairement en follicules médullaires.

Le tissu interstitiel de la substance corticale a la même structure que celui de la substance médullaire ; sur plusieurs points de l'ovaire, ces deux tissus se pénètrent. L'un et l'autre ne présentent point de figures caryocinétiques, mais leurs noyaux sont souvent en pycnose, ce qui démontre un commencement de régression et comme conséquence une mort certaine. Nous admettons une destruction continuelle des vieux éléments, et leur renouvellement aux dépens de nombreux corps jaunes atrésiques.

S'il en était autrement, l'ovaire prendrait des dimensions démesurées, de nouveaux faux corps jaunes se formant à toutes les époques de l'année, principalement durant la gestation.

Origine des vrais corps jaunes. — Formations périodiques et temporaires, les vrais corps jaunes naissent d'une manière toute spéciale. On ne peut en aucun moment de leur développement, les confondre avec les corps jaunes atrésiques. D'abord les follicules de DE GRAAF dont ils tirent leur origine, deviennent beaucoup plus volumineux. La thèque interne, contrairement à ce qui se passe dans la genèse des corps jaunes atrésiques, reste mince, mais richement vascularisée.

Un ovaire de Taupe, fixé le 25 février, par conséquent peu de temps avant le début de la gestation, présentait sur la même coupe des follicules en voie d'atrésie et quelques gros follicules mûrs, d'aspect tout à fait normal. La thèque du follicule mûr comprend une ou deux rangées de cellules bien délimitées, à contours précis, séparées de la membrane vitrée par de larges capillaires, disposés en couronne continue. Le noyau renferme un petit réseau chromatique, entouré d'un protoplasme clair, d'aspect granuleux. La granulosa, au lieu de présenter des signes de dégénérescence, est au contraire très développée. Il y a une grande différence de conformation entre les éléments du disque proligère et ceux de la granulosa proprement dite. Dans le disque proligère, les cellules mal nourries, sont serrées, sans délimitation précise, claires, pauvres en protoplasma, sans toutefois présenter les altérations des follicules atrésiques. La granulosa proprement dite est décomposable à son tour en deux zones distinctes. Une zone superficielle, en contact avec la membrane basale et par conséquent avec les nombreux capillaires de la thèque, comprend des cellules espacées, arrondies ou fusiformes, riches en cytoplasme, disposées en plusieurs assises. Les cellules de cette zone semblent subir une sorte de dissociation, qui rend leurs contours très précis et donne une nouvelle forme au corps protoplasmique. La zone profonde plus épaisse, claire, a les caractères du disque proligère.

Les cellules de la zone externe, mieux nourries, subissent les premières la transformation lutéine. Beaucoup d'auteurs ont vu des gouttelettes de graisse dans leur protoplasme. Les éléments du disque proligère destinés à être expulsés avec l'ovule, ne subissent pas cette transformation.

La transformation lutéine de la granulosa, débutant avant la rupture du follicule, n'envahit pas toutes les cellules en même temps : elle intéresse d'abord des nids de cellules plus ou moins espacés, situés immédiatement en dessous de la membrane vitrée. Ce processus se généralise toujours davantage, et au moment de la déhiscence, s'étend dans toute l'étendue de la granulosa. Les capillaires de la thèque, très distendus par la pression sanguine, font saillie à l'intérieur du follicule, et beaucoup de globules rouges libres se voient disséminés entre les cellules de la granulosa.

La paroi des capillaires est remarquablement mince et se confond par places avec la membrane vitrée.

Les follicules en voie d'atrésie, observés dans le même ovaire, beaucoup plus petits, présentent une granulosa dégénérée, une thèque épaissie à cellules serrées, peu distinctes les unes des autres, et un ovule profondément altéré. Au lieu d'une vésicule germinative, on en voit plusieurs de volume différent, occupant une place quelconque dans le vitellus. Celui-ci n'est pas normal : dans son sein apparaissent de grosses vacuoles régulièrement sphériques et un grand nombre de granulations basophiles, particulièrement abondantes sous la zone pellucide, parfois dans son épaisseur, où elles forment des traînées.

Quelques cellules de la granulosa subissent une dégénérescence pigmentaire caractéristique, chose qui n'a pas lieu lors de l'évolution des vrais corps jaunes. En revanche, on n'observe pas la transformation lutéine dans la granulosa des faux corps jaunes atrésiques.

Une autre Taupe, disséquée le 6 mars, renfermait dans chaque ovaire plusieurs follicules mûrs rompus. Le disque proligère qui entoure l'ovule a la même structure que dans le cas précédent, tandis que les cellules de la granulosa, ayant subi la transformation lutéine, sont de formes variées, riches en protoplasme et, au lieu d'être juxtaposées, sont au contraire isolées, dissociées les unes des autres. A l'organe épithélial s'est substitué un nouveau tissu d'apparence conjonctive, que nous retrouverons dans les couches profondes du vrai corps jaune.

La thèque du follicule rompu, assez mince, mais très vascu-

larisée, est composée de cellules qui ont la plus grande ressemblance avec les cellules interstitielles ambiantes. Nous insistons sur ces différences : la thèque du follicule atrésique évoluant en faux corps jaune, prend une part très active à l'accroissement de celui-ci, tandis que dans les follicules mûrs se transformant en vrais corps jaunes, la thèque reste au second plan, la granulosa jouant le rôle principal.

Chez une Taupe portante (morules dans l'oviducte) le vrai corps jaune est déjà formé et la cicatrice visible au point de rupture. Il y a une vaste cavité centrale, occupée par une masse coagulée, dépourvue d'éléments figurés. Le fait le plus intéressant est la structure de la paroi qui est décomposable en deux zones différentes. Une zone externe, superficielle, très vascularisée, renfermant un grand nombre de cellules serrées, à noyau plutôt petit, riche en chromatine ; une zone interne, profonde, dépourvue de vaisseaux, composée d'éléments isolés, à noyau plus volumineux et plus clair, situé dans un corps protoplasmique à contour irrégulier. Il est hors de doute que la couche externe représente la thèque avec ses nombreux capillaires, tandis que la couche interne est la partie de la granulosa qui n'a pas été entraînée lors de l'expulsion de l'ovule.

Tous les éléments de la thèque interne entrent donc, ainsi que la granulosa, dans la composition du corps jaune et lorsque celui-ci est tout à fait constitué, la thèque externe, non modifiée, lui forme une enveloppe complète. Il arrive une période où les cellules de la thèque interne et de la granulosa prenant des caractères identiques, on ne peut plus les distinguer. Les cinèses qui ne se montrent pas normalement dans la thèque, font aussi défaut dans les cellules de la granulosa, après leur transformation en cellules à lutéine.

Notre conclusion est que le vrai corps jaune de la Taupe se forme à la fois de la thèque interne et de la granulosa. D'après Van der Stricht, les cellules à lutéine du corps jaune de la Chienne, de la Chauve-Souris et de la Femme, dérivent en très grande partie des cellules épithéliales folliculaires (granulosa), en petite partie d'éléments conjonctifs interstitiels de la

thèque interne. Nous n'admettons pas les hypothèses trop absolues, défendues aujourd'hui encore par divers auteurs, d'après lesquelles le corps jaune se formerait *exclusivement* de la thèque ou *exclusivement* de la granulosa.

Chez la Taupe portante, (embryons de 3 mm.), les corps jaunes ont encore une petite cavité centrale, occupée par quelques cellules conjonctives baignant dans une masse finement granuleuse. Les vaisseaux sont très abondants et parcourent l'organe dans tous les sens. Dans un stade plus avancé (Taupe portante, embryons de 15 mm.) le corps jaune très volumineux, bien circonscrit, se distingue très nettement du tissu interstitiel par sa coloration plus foncée et par le volume plus grand de ses éléments. En outre, les formations folliculaires qui caractérisent la glande interstitielle, ne se montrent jamais dans le vrai corps jaune.

Chez une Taupe portante, (embryons de 31 mm.), le corps jaune dont le volume a sensiblement diminué, est en voie de régression. Un réseau sanguin exceptionnellement développé, le transforme en une sorte de tissu spongieux. On remarque dans ce stade, quelques noyaux en pycnose.

Le corps jaune persiste quelque temps après la gestation, mais les contours en sont plus ou moins effacés, envahis par le tissu ambiant. Il arrive un moment où il disparaît sans laisser de traces ; sa place est occupée, dès lors, par de jeunes follicules de de Graaf.

BELETTE

Les ovaires de Belette recueillis en Juillet, sont particulièrement favorables à l'étude du développement de la glande interstitielle. L'ovaire arrondi, large de 4 mm., à surface bosselée, aspect dû à la présence de vrais corps jaunes, ainsi qu'aux gros follicules de de Graaf, est complètement enfermé dans une poche épaisse, dépendance du péritoine et dans laquelle s'ouvre la trompe de Fallope. L'épithélium germinatif (fig. 15 et 16), formé d'une rangée de cellules cubiques, sans limites distinctes, serrées les unes contre les autres, est très aminci au niveau des

saillies répondant aux corps jaunes. Une véritable albuginée, membrane dense, riche en petites cellules, entoure l'ovaire, et envoie par sa face profonde des septa bien accusés, délimitant par leurs anastomoses des espèces de loges dans lesquelles se trouvent les follicules ovariques, les vrais corps jaunes ainsi que les lobes du tissu interstitiel. Les septa à leur tour envoient des cloisons secondaires dans l'épaisseur de la glande interstitielle, qui se trouve de la sorte divisée en lobules plus petits et tout l'organe prend l'aspect d'une glande acineuse, avec cette différence que les acini, au lieu de présenter une lumière, restent pleins.

Il n'y a pas de délimitation nette entre les substances corticale et médullaire ; de même que l'on rencontre des follicules dans le centre de l'organe, des trainées de cellules interstitielles s'interposent jusque près de la surface, entre l'albuginée et les follicules primordiaux. Il y a cependant une zone centrale, assez restreinte, riche en gros vaisseaux, se continuant avec les éléments du hile.

Dans l'ovaire de la Belette, nous étudierons tour à tour les follicules, le tissu interstitiel et les vrais corps jaunes.

Follicule ovarique. — Immédiatement en dessous de l'albuginée, parfois dans son épaisseur, on distingue quelques follicules primordiaux, de petite taille (7 à 8 μ), arrondis, entourés sur la coupe de 5 ou 6 cellules folliculeuses à noyaux ovoïdes, légèrement recourbées pour mieux s'adapter à la forme sphérique de l'ovule. Pas de thèque appréciable, ni de réseau capillaire périfolliculaire. D'autres follicules, moins nombreux, sont arrivés à un haut degré de leur évolution ; ils ont une thèque conjonctive différenciée en deux couches. La couche interne, mieux développée, est composée de nombreuses petites cellules, à protoplasma encore peu abondant, mais ayant une affinité assez prononcée pour les matières colorantes (éosine ou acide picrique) ; les noyaux, ronds, présentent des figures de division. La couche externe, mince, se continue insensiblement avec le stroma ambiant.

Une granulosa pluristratifiée, offrant un grand nombre de

cinèses, est séparée de la thèque par une mince membrane vitrée, bien accusée, à la face externe de laquelle sont appliqués de petits noyaux allongés, appartenant à la thèque interne. Ces follicules renferment une quantité plus ou moins grande de liquide folliculaire. L'ovule plutôt petit (environ 90 μ), entouré d'une zone pellucide épaisse de 2 à 5 μ, se trouve placé à peu près au centre du follicule. Ce qui frappe d'avantage, ce sont des formations spéciales, abondantes dans la zone centrale, qui ne sont autre chose que les faux corps jaunes ou plutôt les corps jaunes atrésiques, puisque l'ovule n'a pas été expulsé. On en rencontre également dans la substance corticale, atteignant l'albuginée et même la face profonde de l'épithélium germinatif. Les intervalles qui séparent les faux corps jaunes sont occupés par des colonnes de cellules interstitielles, qui pénètrent même au sein de la substance corticale, entre les follicules primordiaux.

A un examen plus approfondi, il est aisé de s'apercevoir que la plupart des follicules ne sont pas normaux : ils présentent des symptômes d'atrésie, d'autant plus accusés que les follicules sont plus profondément situés. Les phénomènes de régression commencent à se manifester tout d'abord dans la thèque. Cette membrane, assez mince dans les jeunes follicules, commence à s'épaissir à la suite d'une augmentation de ses éléments, comme l'attestent les mitoses que l'on voit en grand nombre dans la couche la plus interne. Les éléments conjonctifs de cette zone, qui normalement ont un aspect allongé, fusiforme, avec un noyau ovoïde, à protoplasma fixant très faiblement l'éosine et l'acide picrique, perdent ces caractères. Tout d'abord le noyau s'arrondit, grossit légèrement en devenant sphérique ; le protoplasma augmente de volume et fixe plus énergiquement les matières colorantes. La chromatine, qui était disséminée dans le noyau, se condense en petits corpuscules plus abondants vers la surface. Un nucléole typique apparaît, occupant une place quelconque de l'aire nucléaire. Toute la thèque interne est décomposée en territoires, plus ou moins volumineux, délimités par des trainées de petits noyaux, qui se confondent en dehors avec les éléments de la thèque externe, et forment du côté de la membrane vitrée une couche continue. Au sein de la thèque

externe se voient des cellules interstitielles volumineuses, bien différenciées.

L'ovule commence aussi à présenter des phénomènes de dégénérescence. La vésicule germinative disparaît par un processus caryolitique. Elle change d'abord de place, devient excentrique, s'accole parfois à la face profonde de la pellucide, en même temps qu'elle prend un aspect plus ou moins étoilé, dû au plissement de sa membrane épaissie. La chromatine se condense en plusieurs petites boules qui, perdant leur chromaticité, sont dès lors invisibles. Le corps de la vésicule germinative peut se diviser en fragments inégaux. La membrane nucléaire, plus résistante, se plisse et disparaît à son tour sans laisser de traces. Le protoplasme de l'ovule subit des modifications à peu près semblables à celles que nous avons décrites dans l'ovaire de la Taupe.

En même temps que la chromatolyse du noyau, se produit la disparition de la zone pellucide. Celle-ci commence d'abord par subir une hypertrophie considérable (5 μ au lieu de 2) ; elle arrive à former autour de l'ovule une espèce de coque épaisse, hyaline, réfringente, se colorant intensivement par l'éosine, l'acide picrique ou l'hématoxyline ferrique. Sa surface externe prend des contours très réguliers et se détache du disque proligère, tandis que sa face interne se continue insensiblement avec les traînées du réseau protoplasmique.

Traités par l'hémotoxyline ferrique, la zone pellucide et le liquide folliculaire restent noirs, tandis que la granulosa, l'ovule, les cellules interstitielles et les corps jaunes se décolorent complètement.

Avant que les phénomènes régressifs de l'ovule touchent à leur fin, la couche granuleuse, qui jusqu'alors avait résisté à la dégénérescence, devient le siège d'altérations profondes que nous allons brièvement décrire. Ces altérations frappent en premier lieu le protoplasme, qui se répand entre les noyaux : les limites cellulaires sont maintenant indistinctes. Quelques cellules deviennent étoilées et simulent l'aspect du tissu conjonctif réticulé. Les éléments du disque proligère persistent en partie au voisinage de l'ovule, sous forme d'une masse multi-

nucléée et ceci après la disparition totale du liquide folliculaire. La place de l'ovule est occupée pendant un certain temps par un amas de noyaux, les derniers représentants de la granulosa.

Dans ce processus de régression, nous n'avons jamais vu des leucocytes intervenir dans l'absorption des parties mortifiées, comme c'est le cas chez beaucoup d'autres animaux. Les produits de désintégration sont probablement utilisés pour l'accroissement des cellules interstitielles, mais ils sont peut-être aussi éliminés par les voies sanguine ou lymphatique.

De tout le follicule ovarique, il ne persiste donc que la thèque profondément modifiée. Le follicule de de Graaf ainsi remanié, deviendra un faux corps jaune, lequel à son tour, après avoir subi quelques changements, contribuera à la formation de la glande interstitielle.

Revenons à la thèque que nous avons laissée au moment où sa couche interne s'est hyperplasiée en présentant une épaisseur considérable. Dès ce moment sa texture change. Au lieu d'un anneau composé de cellules intimement juxtaposées, des cloisons conjonctives riches en petits noyaux vont rompre cette homogénéité. Ces cloisons, contrairement à ce que nous avons observé dans l'ovaire de la Taupe, sont très pauvres en vaisseaux sanguins. Elles pénètrent dans le tissu de la thèque et le dissocient en de petits champs cellulaires, plus ou moins volumineux. Le faux corps jaune atrésique perd ainsi sa forme primitive ; d'arrondi qu'il était comme le follicule, il s'étire, s'aplatit, pour mieux s'adapter à la place qui lui est ménagée. Dans toute l'étendue de l'ovaire se trouvent de la sorte des nids cellulaires qui évolueront en éléments interstitiels. Cette transformation consiste principalement dans l'apparition au sein du protoplasme de nombreuses granulations graisseuses. Les fentes intercellulaires deviennent aussi plus frappantes. Le noyau n'est pas sensiblement plus gros (7 à 8 μ); arrondi, entouré d'une membrane à contours réguliers, il possède toujours un ou deux nucléoles, situés plus ou moins excentriquement.

Cellules interstitielles. — Les cellules interstitielles comprimées les unes contre les autres, sont polyédriques. Sur les

coupes, elles présentent quatre ou cinq faces, par lesquelles elles entrent en rapport avec les cellules voisines ou avec les capillaires sanguins. Ces derniers, nous le répétons, sont peu abondants dans l'ovaire de la Belette. Les dimensions du corps cellulaire varient entre 15 et 26 μ, tandis que le noyau présente presque toujours un diamètre de 7 à 8 μ. Ce dernier est le plus souvent sphérique, parfois ovoïde, et renferme constamment un ou deux nucléoles bien accusés.

Le protoplasme des cellules interstitielles présente une grande affinité pour l'éosine, mais surtout pour l'acide picrique qui, le teignant en jaune intense, le fait très bien ressortir. Dans un grand nombre de cellules, on observe des formations vacuolaires, à contours plus ou moins précis, entourant partiellement le noyau ou occupant au sein du protoplasme une place quelconque. Nous avons déjà eu l'occasion de décrire des formations analogues dans le tissu interstitiel du testicule humain (Popoff 1909), mais dans le cas particulier les espaces vacuolaires, et surtout les fentes intercellulaires, sont beaucoup mieux accusés (fig. 18). Aimé, étudiant l'ovaire du fœtus de Cheval, décrit dans le protoplasma des cellules interstitielles des canalicules de Holmgren. Ces canalicules apparaissent comme de petits espaces clairs, vermiculaires et contournés, à bords très nets et bien découpés dans le cytoplasme. Cet auteur n'a pas vu de relations entre ces canaux et les cellules conjonctives entourant les éléments interstitiels. Bouin et Ancel ont décrit des formations analogues dans le testicule du fœtus de Cheval.

Les espaces intercellulaires ne sont, bien entendu, que de simples interstices sans revêtement propre et ne renferment aucun élément figuré. On pourrait naturellement envisager ces formations comme des produits artificiels, provenant de l'action des réactifs durcissants ; les corps cellulaires se rétractent et diminuent de volume, laissant autour d'eux une sorte de vide, dont les dimensions sont en rapport avec le degré de la rétraction. L'objection n'est certes pas sans valeur, mais elle n'est pas non plus sans réplique : d'abord ces fentes n'occupent qu'une partie de la surface du corps cellulaire, les contours en sont réguliers et ceci après l'action de divers agents fixateurs.

On peut les considérer soit comme des voies réservées aux échanges nutritifs ou peut-être, comme des voies d'élimination des produits de secrétion, car nous savons que les cellules interstitielles sont le siège d'une grande activité.

Les rapports des cellules interstitielles avec les capillaires sanguins ont été étudiés par de nombreux auteurs. His (1865) les a déjà indiqués le premier d'une manière très nette. Limon (1901) observe chez le Rat et le Lapin, la multiplicité de ces rapports, ces relations étant, au contraire, moins intimes chez d'autres espèces. Sainmont (1906), dans l'ovaire du Chat, a toujours observé dans le tissu conjonctif de nombreux capillaires, séparant les groupes de cellules interstitielles. Chez la Taupe, nous avons constaté la présence d'un riche réseau de capillaires, dont les mailles sont occupées par des cellules interstitielles. Les capillaires sont parfois si abondants et si larges que tout l'ovaire prend l'aspect d'un tissu caverneux ou spongieux. L'ovaire de la Belette est caractérisé au contraire, par sa pauvreté en vaisseaux sanguins.

Nous connaissons moins bien les rapports des cellules interstitielles avec les vaisseaux lymphatiques.

Regaud et Dubreuil (1906) croient cependant que les produits de sécrétion de la glande interstitielle de l'ovaire (Lapine) sont évacués dans les lymphatiques. En attendant de nouvelles observations, nous admettons la présence de voies d'excrétion de la glande interstitielle, communiquant soit avec le système sanguin, soit avec le système lymphatique.

Comment s'opère la multiplication des cellules interstitielles? Limon n'a jamais observé de divisions mitotiques ou amitotiques. Aimé, chez le fœtus de Cheval, même au stade de 9 cm., où le tissu interstitiel jeune est en voie de formation, n'a jamais pu voir la moindre trace de mitose ou d'amitose; l'auteur conclut de cette observation que les cellules interstitielles ne peuvent prendre naissance que par différenciation sur place d'éléments déjà existants.

Désirant être au clair sur cette question, nous avons examiné à l'aide de grossissements appropriés plusieurs séries de coupes. Dès le premier abord, notre regard fût attiré par la

présence de nombreuses mitoses typiques dans la thèque interne des jeunes follicules (fig. 16). Dans les follicules plus avancés, où la thèque, considérablement épaissie, offre les caractères de la glande interstitielle (fig. 17 et 18), on ne rencontre plus de cinèses. Il y a par conséquent, une période de multiplication au stade des jeunes follicules, après laquelle, sans plus se diviser, les cellules grossissent et se transforment en éléments interstitiels.

Tout le tissu interstitiel de l'ovaire de la Belette ne dérive pas d'un remaniement des corps jaunes atrésiques. On rencontre dans la substance corticale, entre les jeunes follicules, des traînées de cellules interstitielles dont le mode de formation n'est certainement pas le même. La fig. 15 nous montre quelques amas de cellules encore petites, pauvres en protoplasma, se continuant insensiblement avec d'autres, beaucoup plus volumineuses. Nous admettons qu'elles se développent aux dépens de cellules conjonctives n'ayant pas pris part à la constitution de la thèque interne, et par conséquent à l'édification du corps jaune atrésique.

L'ovaire de Belette présente de vrais corps jaunes, caractérisés par leurs contours régulièrement arrondis, revêtus d'une épaisse capsule conjonctive et surtout par l'aspect spécial de leurs éléments. L'ovaire de l'un de nos sujets en renfermait quatre, très rapprochés les uns des autres ; dont deux faisaient saillie à la surface.

D'un diamètre d'environ 650 μ, chaque corps jaune se laisse décomposer en une zone corticale, plus dense, riche en cellules et une zone centrale, plus lâche, renfermant de nombreux capillaires sanguins, accompagnés d'un stroma conjonctif assez abondant.

Traitées par l'hémalun - Van Gieson, tandis que les cellules interstitielles prennent une teinte jaune très prononcée, les cellules du corps jaune restent plus foncées, d'un brun-jaunâtre, et il est impossible de confondre ces deux formations.

CHIENNE.

Chienne nouveau-née, âgée de 12 heures — L'ovaire large de 3.5 mm., offre de grandes analogies avec celui de la Taupe.

On y distingue facilement une substance corticale, tapissée par l'épithélium germinatif, avec des cordons de Pflüger et une substance médullaire moins développée (1,5 mm.), complètement entourée par la première.

Entre les deux zones se voient quelques vaisseaux sanguins, plongés dans un stroma conjonctif riche en cellules fusiformes. Au fort grossissement, on reconnaît dans la substance médullaire un grand nombre de cordons étroits, plus ou moins allongés, renfermant beaucoup de cellules en voie de division ; de nombreuses cellules interstitielles peu différenciées occupent les interstices, ainsi qu'un riche réseau capillaire. Les cordons sont entourés d'une mince membrane nucléée et offrent en coupe transverse, l'aspect des follicules médullaires de la Taupe.

Chez une jeune Chienne, âgée de quelques semaines, la substance médullaire, mieux accusée, renferme des cordons très développés, baignant dans un abondant tissu interstitiel à cellules mieux différenciées. La fig. 23 nous montre la coupe de deux cordons médullaires, situés au milieu d'un amas de cellules interstitielles. Les cordons, régulièrement cylindriques, clairs, sont tapissés d'une rangée de cellules pyramidales effilées, convergeant comme les rayons d'une roue vers le centre, où leurs sommets peuvent s'enchevêtrer plus ou moins, tandis que les bases élargies en forme de pied, reposent sur une membrane propre bien accentuée. Les corps cellulaires ne se touchant pas par leurs bords, il en résulte un système de lacunes, qui donne l'aspect caractéristique à ces cordons; ceux-ci offrent encore cette particularité qu'ils sont complètement dépourvus de figures caryocinétiques.

Des cordons analogues se voient aussi dans l'ovaire de la Chienne adulte et portante (fig. 22) : quelques-uns pénètrent dans la substance corticale où ils se mettent en rapport avec les follicules de de Graaf. Cette dernière disposition a autorisé certains auteurs à admettre la participation de ces cordons dans la formation de l'ovisac ; ils donneraient naissance aux cellules folliculeuses. Par leur aspect, les cordons médullaires se rapprochent des canalicules séminifères avortés, dépourvus

de spermatogonies, mais conservant leurs cellules folliculeuses.

Des cellules interstitielles se montrent aussi chez l'animal adulte, avec des caractères analogues à celles que l'on observe dans la glande génitale mâle. Le corps cellulaire à contours bien nets, renferme un noyau arrondi, dont la chromatine est dissociée en petits grains plus ou moins réguliers. Le protoplasme est tantôt finement granuleux, se colorant plus fortement autour du noyau, tantôt d'une structure alvéolaire caractéristique, signalée déjà par Löwenthal (1888), chez le Chien, le Chat et le Lapin.

Nous considérons la substance médullaire de l'ovaire de Chienne, comme l'homologue d'un testicule rudimentaire, et admettons, de même que pour la Taupe, qu'il tire son origine d'une première prolifération de l'épithélium germinatif.

L'ovaire d'une Chienne portante, fixé dans le liquide de Zenker, nous montre un grand nombre de cordons médullaires, pénétrant en partie dans la substance corticale, jusqu'au voisinage de l'épithélium germinatif. Les vrais corps jaunes, énormes à cette époque, en présentent quelques-uns, très étroits, dans l'épaisseur de leur capsule fibreuse. Les cellules interstitielles sont toutefois beaucoup moins nombreuses.

Remarquons encore que de grandes variations de structure s'observent dans l'ovaire de Chienne. Ainsi, chez un sujet de deux mois, toute la substance médullaire était composée d'un noyau fibreux, presque dépourvu de cordons médullaires et, chose remarquable, il n'y avait point de cellules interstitielles. Ces cas peuvent expliquer en partie les diverses opinions émises par les auteurs au sujet de la présence ou de l'absence d'une glande interstitielle chez cette espèce.

Contrairement à la classification publiée par Aimé, nous rangeons la Chienne dans le groupe des mammifères ayant un ovaire pourvu de glande interstitielle chez le fœtus et chez l'adulte.

RÉSUMÉ.

L'origine et l'évolution des cellules interstitielles de l'ovaire, varient suivant les espèces considérées. Chez la Taupe par

exemple, ces cellules apparaissent de bonne heure au sein du segment externe. Les cordons cellulaires qui caractérisent ce segment dérivent d'une première prolifération de l'épithélium germinatif (Schulin, von Winiwarter et Sainmont) et non pas du corps de Wolff (Harz, Chiarugi, Paladino, Janošik, Tourneux); ils ont pour homologues les canalicules séminifères de la glande sexuelle mâle. La présence d'un *rete*, de cellules interstitielles et d'un revêtement péritonéal à la place de l'épithélium germinatif, permet de considérer le segment externe de l'ovaire de la Taupe comme un testicule rudimentaire.

Chez la Taupe, les cordons médullaires se transforment en corps spéciaux, plus ou moins réguliers, les *follicules médullaires*, qui sont toujours entourés d'une membrane nucléée Leurs éléments sont, chez le jeune animal, le siège de fréquentes divisions caryocinétiques.

Les cordons médullaires de l'ovaire de Chienne, gardent leur aspect primitif pendant toute la vie ; ils pénètrent aussi dans la substance corticale en se mettant en rapport avec les ovisacs. Leurs éléments n'offrent jamais de mitoses et présentent de grandes analogies avec les cellules de Sertoli du testicule.

L'origine du tissu interstitiel fœtal est discutée. Aimé, chez le fœtus de Cheval, le fait provenir des cellules conjonctives embryonnaires du stroma. Il n'en serait pas de même dans l'ovaire du fœtus de Taupe. Nous pensons que chez cette espèce, les follicules médullaires participent à la formation du tissu interstitiel fœtal. Les nombreuses cinèses attestent une multiplication des éléments folliculaires; la pauvreté du stroma en cellules mésenchymateuses et l'existence de formes intermédiaires entre les follicules et les cellules interstitielles parlent en faveur d'une origine commune.

Dans l'ovaire de la jeune Chienne, les cellules interstitielles paraissent se développer, indépendamment des cordons médullaires, au sein d'un stroma riche en cellules conjonctives.

Toute la substance médullaire de l'ovaire du fœtus de Taupe évolue en *glande interstitielle*. Cette glande forme le segment externe décrit ci-dessus. L'existence d'une glande interstitielle fœtale a été signalée également chez les Solipèdes (Aimé) et le

Chat (Sainmont). Les nombreuses cellules interstitielles disséminées entre les cordons médullaires de l'ovaire du fœtus de Chienne, peuvent également être considérées comme une glande interstitielle.

La glande interstitielle de la Taupe, au lieu d'être enveloppée par la substance corticale, lui est simplement juxtaposée; la surface est revêtue par le péritoine.

La substance ovigère, tapissée par l'épithélium germinatif, se trouve enfermée dans une poche péritonéale close, qui fait son apparition les derniers jours de la gestation. C'est dans la paroi de cette poche que chemine l'oviducte, faisant un tour complet avant de s'ouvrir à l'intérieur.

Chez la Taupe jeune, la glande interstitielle fœtale persiste en formant tout le segment externe de l'ovaire, qui est beaucoup plus développé que le segment interne ou portion ovigère. Dans cette portion apparaissent plus tard des cellules interstitielles typiques, aux dépens d'ovisacs transformés préalablement en corps jaunes atrésiques.

Le corps jaune atrésique prend naissance, chez la Taupe et la Belette, dans la thèque interne, après destruction de l'ovule et de la granulosa. Toutefois, la granulosa ne disparaît pas complètement chez la Taupe; quelques-uns de ses éléments subissent, au cours de ce processus, une dégénérescence pigmentaire et occupent sous cette forme le centre du corps jaune atrésique. Après la transformation de ce dernier en tissu interstitiel, les cellules pigmentaires se répandent dans le stroma; elles y persistent plus ou moins longtemps.

L'ovaire de la Taupe adulte est caractérisé par l'existence de tissu interstitiel dans ses deux segments constitutifs. Le tissu interstitiel d'origine fœtale compose le segment externe, tandis que le tissu interstitiel adulte, développé aux dépens des corps jaunes atrésiques, occupe la portion ovigère. Ces deux tissus ont les mêmes caractères histologiques et se pénètrent réciproquement. Des follicules analogues à ceux de la substance médullaire, apparaissent également dans le tissu interstitiel adulte. Ils se développent probablement aux dépens de cordons cellulaires particuliers qui ont été observés dans la

portion ovigère. Nous considérons ces cordons comme des tubes de Pflüger avortés, dépourvus d'ovocytes ; seules les cellules folliculeuses persisteraient pour entrer dans la constitution de la glande interstitielle. Cette hypothèse confirmerait l'idée de Loisel, qui croit à l'origine commune des cellules folliculeuses et des cellules interstitielles.

L'importance de la glande interstitielle varie aux diverses époques de la vie. Très développée avant et pendant la gestation, elle diminue près du terme de celle-ci, sans toutefois disparaître complètement. Nous admettons avec Regaud et Dubreuil une néoformation continue des cellules interstitielles, contrairement à Limon qui considère ces éléments comme définitifs.

Si les vieux éléments ne dégénéraient pas, l'ovaire prendrait des dimensions énormes. On remarque en effet, que de nombreux corps jaunes atrésiques se forment pendant toute l'année, se transformant chaque fois en tissu interstitiel. Les cas multiples de noyaux en pycnose parlent également en faveur d'une destruction.

L'ovaire de la Chienne adulte renferme aussi des cellules interstitielles et des cordons médullaires caractéristiques. Cependant, ces derniers ne restent pas localisés dans la substance médullaire, mais pénètrent partiellement dans la substance corticale, en se mettant en rapport avec les follicules de de Graaf.

Nous n'avons pas observé des cordons médullaires dans l'ovaire de la Belette.

Les vrais corps jaunes se forment surtout aux dépens de la granulosa et en partie seulement aux dépens de la thèque interne. La transformation lutéine de la granulosa débute, chez la Taupe, avant la déhiscence du follicule et ne s'étend pas au disque proligère qui est expulsé avec l'ovule. La thèque interne, très hypertrophiée dans les ovisacs en atrésie, reste, au contraire, relativement mince dans les ovisacs mûrs ; dans les deux cas, ses vaisseaux sanguins atteignent un développement considérable. Nous avons même vu de petites hémorrhagies se produire peu avant la déhiscence ; des globules rouges en grand nombre se voyaient entre les cellules de la granulosa.

Au début, le corps jaune présente une cavité centrale remplie par une masse granuleuse qui ne tarde pas à disparaître. Les cellules à lutéine, qu'elles dérivent de la granulosa ou de la thèque, prennent des caractères identiques, sans jamais présenter de mitoses dans leurs noyaux.

Les vrais corps jaunes persistent chez la Taupe pendant toute la durée de la gestation. Peu de temps avant le terme, le corps jaune se transforme en une sorte de tissu caverneux, tant il est vascularisé. Quelques jours après le part, il disparaît complètement sans laisser de trace. On peut donc conclure : 1° que le corps jaune vrai donne des produits de sécrétion utilisés pour le développement de l'embryon ; 2° que cet organe cesse de fonctionner après l'expulsion des fœtus.

Fraenkel, supprimant expérimentalement le corps jaune chez une Lapine pendant la grossesse au début, arrête le développement de l'embryon.

Le rôle des corps jaunes atrésiques qui se forment en dehors de la gestation est à l'heure actuelle difficile à préciser ; de même la fonction du tissu interstitiel qui en dérive.

Le tissu interstitiel manque, prétend-t-on, dans l'ovaire de la Femme. Peut-être cependant, pourrait-on considérer comme tel la thèque interne des ovisacs mûrs, cette membrane, très développée, renfermant un grand nombre de cellules à protoplasma éosinophile (fig. 19). Nous avons observé, à côté des corps jaunes de la menstruation, beaucoup de corps jaunes développés exclusivement aux dépens de la thèque, sans participation de la granulosa et après disparition de l'ovule sur place, par voie de dégénérescence. Fondés sur cette observation, nous admettons que chez la Femme, il y a aussi (outre les corps jaunes de la menstruation et de la grossesse) des *corps jaunes atrésiques,* analogues à ceux des animaux et se développant d'une manière identique, c'est-à-dire aux dépens de la thèque seule.

Sans se transformer en tissu interstitiel proprement dit, les corps jaunes atrésiques de l'ovaire de la Femme persistent assez longtemps pour que, pendant sa période d'activité sexuelle, la glande génitale n'en soit jamais entièrement privée.

CONCLUSIONS

1° Les cordons médullaires de l'ovaire de la Taupe et de la Chienne dérivent d'une première prolifération de l'épithélium germinatif. Quelques canalicules du corps de Wolff se transforment chez la Taupe en *rete ovarii.*

2° Le segment interne de l'ovaire de la Taupe, développé en suite d'une nouvelle prolifération de l'épithélium germinatif, se trouve de bonne heure séparé du segment externe par une capsule péritonéale fermée.

3° Le segment externe offre les caractères d'un testicule rudimentaire ; la présence de cordons analogues aux canalicules séminifères de l'embryon, l'existence d'un *rete* et d'une capsule fibreuse tapissée par le revêtement péritonéal, parlent en faveur de cette hypothèse. Ce segment évolue en glande interstitielle fœtale, caractérisée par des follicules médullaires et par des cellules interstitielles.

4° Dans l'ovaire de Chienne, les cordons médullaires conservent leur aspect primitif, en même temps que de nombreuses cellules interstitielles se différencient au sein du stroma conjonctif.

5° La glande interstitielle adulte se développe chez la Taupe et la Belette, aux dépens des éléments de la thèque interne, mais après que ces éléments se sont transformés en un organe spécial, le corps jaune atrésique.

Chez la Belette, les cellules du corps jaune atrésique ne subissent plus, au cours du développement de la glande interstitielle, que des modifications de forme et d'arrangement, tandis que chez la Taupe, des follicules analogues à ceux de la glande interstitielle foetale se montrent en un moment donné. Ces follicules se forment probablement aux dépens de cordons épithéliaux de la substance ovigère, représentant des tubes de Pflüger avortés.

6° Chez la Femme, outre les corps jaunes de la menstruation et de la grossesse, il y a aussi des corps jaunes atrésiques, analogues à ceux des animaux. Tandis que les premiers se développent surtout aux dépens de la granulosa, dans les corps jaunes atrésiques, la thèque joue le rôle principal.

7° Les vrais corps jaunes se développent chez la Taupe surtout aux dépens de la granulosa et en partie aux dépens de la thèque. Ils persistent quelque temps après la fin de la gestation.

EXPLICATION DES FIGURES.

Planche XX.

Fig. 1. — Organes génitaux internes de la Taupe adulte. *cu*, corne utérine ; *po*, poche ovarique insufflée, renfermant dans son épaisseur la trompe (*tr*) et dans sa cavité le segment interne (*si*) de l'ovaire. *se* segment externe ou glande interstitielle. × 7 ½.

Fig. 2. — Taupe jeune. *Foll.* follicules médullaires et *ci*, cellules interstitielles du segment externe de l'ovaire. *ca*, capillaires. Liq. de Gilson, hém. éos. × 1480.

Fig. 3. — Fragment d'un vrai corps jaune chez une Taupe portante (embryon de 3 mm.). Liq. de Gilson, hém. éos. × 700.

Fig. 4. — Follicules primordiaux et épithélium germinatif chez une Taupe très jeune. Liq. de Gilson, hématox. ferr. éos. × 580.

Fig. 5. — Ovaire de Taupe portante. *eg*, épithélium germinatif ; *c*, cordons épithéliaux (tubes de Pflüger avortés) *ci*, cellules interstitielles. Liq. de Gilson ; hém. éos. × 680.

Fig. 6. — Coupe de l'ovaire d'une Taupe portante, montrant une zone ciliée de l'épithélium germinatif. *fp*, follicules primordiaux ; *ci*, cellules interstitielles. Liq. de Gilson ; hém. éos. × 560.

Planche XXI.

Fig. 7. — Follicule de de Graaf d'une Taupe portante. (embr. de 31 mm.). On voit : le début de la dégénérescence de la granulosa (*gr*) ; un ovule avec 3 vésicules germinatives ; une zone pellucide épaissie et *Ti* un fragment de la thèque interne. Liq. de Bouin, hématox. ferr. éos. × 460.

Fig. 8. — Taupe portante. Follicule de de Graaf en atrésie. La granulosa est transformée en tissu réticulé. L'ovule a 2 vésicules germinatives. La thèque interne épaissie, renferme beaucoup de capillaires Liq. de Gilson, hématox. ferr. éosine × 240.

Fig. 9. — Ovaire de Taupe portante. Ovule en voie de dégénérescence fragmentaire. *zp*, zona pellucida hypertrophiée ; *gr*, granulosa ; *c*, cordons épithéliaux destinés à se transformer en follicules de la glande interstitielle adulte. *ci*, cellules interstitielles. Liq. de Bouin, hém. éos. × 800.

Fig. 10 et 11. — Ovaire de Taupe non portante, segment externe. Ces figures montrent des follicules médullaires et des cellules interstitielles. Liq. de Gilson, hématox. éos. × 1040.

Fig. 12. — Follicules de la glande interstitielle fœtale. On voit des cellules en voie de division. Liq. de Gilson, hématox. ferr. éosine. × 1040.

Fig. 13 — Jeune follicule de de Graaf développé au sein de la glande interstitielle foetale. *ci*, cellules interstitielles. Liq. de Gilson, hém. éos. × 700.

Fig. 14 — Ovaire de Taupe portante. Coupe d'un corps jaune atrésique. Quelques cellules de la granulosa ayant subi la dégénérescence pigmentaire se voient à son intérieur. Liq. de Gilson, hém. éos. × 400.

Fig. 15. — Ovaire d'une Belette portante. *ep*, épithélium germinatif ; *ci*, cellules interstitielles. On remarque trois follicules en voie d'accroissement. Liq. de Gilson, hém. éosine. × 400.

Planche XXII

Fig. 16. — Belette portante. Coupe d'un follicule montrant des figures caryocinétiques dans les cellules de la thèque interne. Liq. de Gilson, hém. éosine. × 400.

Fig. 17. — Même ovaire. Follicule de de Graaf en atrésie. *Cth*, cellules de la thèque différenciées en cellules du corps jaune atrésique, séparées de la granulosa par une trainée de petits noyaux. Hém. van Gieson. × 400.

FIG. 18. — Même ovaire. L'atrésie folliculaire est beaucoup plus avancée. A la place de la granulosa se voient les petits noyaux de la couche interne de la thèque qui entrent en contact direct avec la zone pellucide épaissie de l'ovule dégénéré. Hématox. ferr. van Gieson.

FIG. 19. — Ovaire de Femme. Coupe de la paroi d'un follicule mûr. *gr*, granulosa ; *mb*, membrane basale ; *Ti*, thèque interne hypertrophiée avec quelques capillaires. *Te*, Thèque externe riche en noyaux allongés. Liq. de Bouin, hém. van Gieson, × 600

FIG. 20. — Embryon de Rhinolophe de 4 mm. Coupe de l'éminence sexuelle (*es*) montrant quelques ovules primordiaux. *cw*, corps de Wolff ; *m*, mésentère. Liq. de Gilson, hém. éos. × 480.

FIG. 21. — Coupe de l'ovaire d'un embryon de Taupe de 31 mm. *sc*, substance corticale montrant une zone superficielle plus claire et une zone profonde plus foncée. *sm*, substance médullaire se transformant en glande interstitielle fœtale ; *cp*, ébauche de la capsule péritonéale, renfermant dans son épaisseur une partie de l'oviducte. Liq. de Bouin, hém. éos. × 80.

PLANCHE XXIII.

FIG. 22. — Coupe d'un cordon médullaire de l'ovaire d'une Chienne portante, avec quelques cellules interstitielles dans le stroma ambiant. Liq. de Zenker, hém. éos. × 600.

FIG. 23. — Ovaire d'une jeune Chienne. Deux cordons médullaires coupés transversalement et autour d'eux, un grand nombre de cellules interstitielles. Liq. de Gilson, hém. van Gieson. × 580.

FIG. 24. — Coupe de l'ovaire d'une jeune Taupe, montrant les deux segments ainsi que la poche ovarique.

FIG. 25. — Taupe portante. Fragment de la glande interstitielle avec quelques follicules médullaires

FIG. 26. — Ovaire de Belette. Une grande partie de la coupe est occupée par du tissu interstitiel.

FIG. 27. — Ovaire de Belette. Coupe d'un corps jaune atrésique. L'ovule persiste encore après la disparition de la granulosa.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1846. Cuvier (G.). — Leçons d'Anatomie comparée, t. VIII, sec. éd. Paris.

1863. Schrön. — Beitrag zur Kenntniss der Anatomie und Physiologie des Eierstocks der Säugethiere. *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, t. VII.

1865. His (W.). — Beobachtungen über den Bau des Säugethier-Eierstocks. *Archiv. f. mikr. Anat.* Bd. I.

1870. Waldeyer (W.). Eierstock und Ei. Leipzig.

1874. Slawianski (K.). — Recherches sur la régression des follicules de de Graaf chez la Femme. *Archives de Phys.*, t. I.

1875. de Sinèty. — Recherches sur l'ovaire du fœtus et de l'enfant nouveau-né. *Archives de Phys.*, série 2, t. II.

1876. Foulis (J.). — On the development of the ova and structure of the ovary in man and other mammalia. (Résumé dans *Jahresb. der Anat. u. Phys.* Bd. V.

1879. Rouget (Ch.). Évolution comparée des glandes génitales mâle et femelle chez les embryons de mammifères. *C. R. Acad. Sciences.* Paris, t. LXXXVIII.

1879. Tourneux (F.). — Des cellules interstitielles du testicule. *Journal d'Anat. et de Phys.*, t. XV.

1879. Wagener (G. R.). — Bemerkungen über den Eierstock und den gelben Körper. *Archiv. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt.*

1880. Van Beneden (Ed.). — Contribution à la connaissance de l'ovaire des mammifères. *Archives de Biol.*, t. I.

1880. Mac Leod. — Contribution à l'étude de la structure de l'ovaire des mammifères. *Archives de Biol.*, t. I.

1881. Schulin (K.). — Zur Morphologie des Ovariums. *Archiv f. mikr. Anat.* Bd. XIX.

1882. Schmiegelow (E.). — Studien über die Entwicklung des Hodens und Nebenhodens. *Archiv f. Anat. u. Phys. Anat. abt.*

1883. HARZ (W.). — Beiträge zur Histologie des Ovariums der Säugethiere. *Archiv f. mikr. Anat.* Bd. XXII.

1883. RENSON (G.). — Recherches sur le rein cephalique et le corps de Wolff chez les oiseaux et les mammifères. *Archiv f. mikr. Anat.* Bd. XXII.

1885. SEMON (R.). — Die indifferente Anlage der Keimdrüsen beim Hühnchen. u. s. w. *Jenaische Zeitsch.* Bd. XIX.

1886. DEBIERRE (Ch.). — Manuel d'Embryologie humaine et comparée. Paris.

1887. HAMANN (O.-H). — Die Urkeimzelle (Ureier) im Tierreich und ihre Bedeutung. *Jenaische Zeitsch.* Bd. XXI.

1888. LÖWENTHAL (Nat.). — Notiz über die Protoplasmastructur der Kornzellen des Eierstockes. *Anat. Anz.*, t. III.

1888. NAGEL (W.). — Das menschliche Ei. *Archiv f. mikr. Anat.* Bd. XXXI.

1889. LÖWENTHAL (Nat.). — Ueber die Rückbildung der Eizellen und Vorkomen von Leucocyten im Keimepithel und in den Eischlaüchen. *Internat. Monats. f. Anat. u. Phys.* Bd. VI.

1890. PRENANT (A.). — Remarques à propos de la constitution de la glande génitale indifférente et de l'histogenèse du tube séminifère. *C. R. Soc. biol.*, sér. 9, t. II.

1893. NAGEL (W.). — Bemerkungen zu der Abhandlung von Schottländer « Ueber den Graaf'schen Follikel ». *Archiv f. mikr. Anat.* Bd. XLI.

1893. SCHOTTLÄNDER (J.). Ueber den Graaf'schen Follikel, seine Entstehung beim Menschen und seine Schicksal bei Mensch und Säugetieren. *Archiv. f. mikr. Anat.* Bd. XLI.

1894. HENNEGUY (L.-F.). — Recherches sur l'atrésie des follicules de de Graaf chez les mammifères et quelques autres vertébrés. *Journal d'Anat. et de Phys.*

1896. JANOSIK (J.). — Die Atrophie der Follikel und ein seltsames Verhalten der Eizelle. *Archiv. f. mikr. Anat.* Bd. XLVIII.

1896. SOBOTTA (J.). Ueber die Bildung des Corpus luteum beim Maus. *Archiv. f. mikr. Anat.* Bd. XLVII.

1897. — Ueber die Bildung des Corpus luteum beim Kaninchen. *Anat. Hefte.* Bd. VIII.

1898. Clark (J.-G.). Ursprung, Wachstum und Ende des Corpus luteum nach Beobachtungen am Ovarium des Schweines und des Menschen. *Archiv. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt.*

1898. Paladino (G.). — Sur le type de structure de l'ovaire. *Archives ital. de Biol.*, t. XXIX.

1898. Stratz (C.-H.). — Vergleichend-anatomische Untersuchungen am Säugetierovarium. *Zeits. f. Geburtsh. und Gynäk.* Bd. XXXVIII.

1899. Belloy (G.). — Recherches sur l'origine des corps jaunes de l'ovaire chez le Rat et le Cochon d'Inde. *Bibl. Anat. suppl.*

1899. Bouin (P.). — Atrésie des follicules de de Graaf et formation de faux corps jaunes. *Bibl. Anat.*, vol. 7.

1899. Cornil (V.). — Note sur l'histologie des corps jaunes de la Femme. *Bull. soc. Anat. de Paris.*

1899. Flemming (W.), — Zur Kenntnis des Ovarialeies. Festschr. f. K. v. Kupffer, p. 321. Iena.

1899. Kölliker (A).—Die corpora lutea atretica bei Säugethieren. *Archiv f. Gynäk.*

1900. Hertwig (Os.). Traité d'Embryologie. Paris.

1900. Honoré (Ch.). — Recherches sur la formation des corps jaunes. *Archiv. de Biol.*, t. XVI.

1900. — Recherches sur l'ovaire du Lapin. *Archives de Biol.*, t. XVI.

1900. Paladino (G.). — A propos de la question controversée relative à l'essence du corps jaune. *Archives ital. de Biol.*, t. XXXIV.

1901. Limon (M.). — Étude histologique et histogénique de la glande interstitielle de l'ovaire. Thèse, Nancy.

1901. Nussbaum (M.). — Zur Entwickelung des Geschlechts beim Huhn. *Anat. Anz.*, t. XIX.

1901. Poirier (P.). — Traité d'Anatomie humaine. T. V. Paris.

1901. Regaud (Cl.) et Policard (A.). — Notes histologiques sur l'ovaire des mammifères. *C. R. Assoc. des Anat.*, 3e sess. Lyon.

1901. Vander Stricht (O.). — La ponte ovarique et l'histogenèse du corps jaune. *Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique.*

1903. LOISEL (G.). — Origine et fonctionnement de la glande germinative chez les embryons d'oiseaux. *C. R. assoc. Anat.* sess. V.

1904. — Les phénomènes de sécrétion dans les glandes génitales. *Journ. d'Anat. et de Phys.*, vol. 40.

1904. TOURNEUX (F.) — Hermaphrodisme de la glande génitale chez la Taupe adulte et localisation des cellules interstitielles dans le segment spermatique. *Bibl. Anat. suppl.*

1905. FRAENKEL (L.). — Vergleichend-histologische Untersuchungen über das Vorkommen drüsiger Formationen im interstitiellen Eierstocksgewebe. *Archiv f. Gynäk.* Bd. 75.

1905. D'HOLLANDER (F.). — Recherches sur l'oogenèse et le noyau vitellin de Balbiani chez les oiseaux. *Archives d'Anat. micr.*, T. VII.

1905. SAINMONT (G.). — Recherches relatives à l'organogenèse du testicule et de l'ovaire chez le Chat. *Archives de Biol.*, t. XXII.

1905. TESTUT (L.). — Traité d'Anatomie humaine. T. IV. Paris.

1906. REGAUD (Cl.) et DUBREUIL. — Recherches sur les cellules interstitielles de l'ovaire chez le Lapin. *Bibl. Anat.*, t. XV.

1906. WALDEYER (W.). — Die Geschlechtszellen. Handbuch der vergleichenden u. experimentellen Entwickelungslehre der Wirbeltiere. *Iena.* Bd. I.

1907. AIMÉ (P.). — Recherches sur les cellules interstitielles de l'ovaire chez quelques mammifères. *Archives de Zool. expér.*, XXXVIIe année, n° 3.

1908. MULON (P.). — Sur certaines formes d'atrésie du follicule dans l'ovaire du Cobaye. *Bibl. Anat. suppl.*, 10e sess. Marseille.

1909. VANDER STRICHT (O.). La structure de l'œuf de Chienne et la genèse du corps jaune. *Bibl. Anat. suppl.*

1909. POPOFF (N.). — L'ovule mâle et le tissu interstitiel du testicule chez les animaux et chez l'Homme. *Archives de Biol.*, t. XXIV.

1909. TOURNEUX (F.). Précis d'Embryologie. Paris.

1009. VON WINIWARTER (H.) et SAINMONT (G.). — Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (Chat). *Archives de Biol.*, t. XXIV.

1910. Delestre (M.). — Recherches sur le follicule de de Graaf et le corps jaune de la vache. *Journal d'Anat. et de Phys.*, vol. 46.

1910. Keibel (F.) und Mall (T.). — Handbuch der Entwickelungsgeschichte. *Erster Band.*, p. 20.

1910. von Winiwarter (H.). — La constitution et l'involution du corps de Wolff et le développement du canal de Müller dans l'espèce humaine. *Archives de Biol.*, t. XXV.

Le Thymus de l'Axolotl

PAR

A. P. DUSTIN

(*Laboratoire d'Histologie de l'Université de Bruxelles*)

(Planches XXIV et XXV)

INTRODUCTION

Voici environ un an que parut l'imposant travail de Hammar : " *Fünfzig Jahre Thymusforschung* „ dans lequel l'auteur réunit et commenta tous les travaux, déjà fort nombreux, concernant la morphologie de l'appareil thymique. De cette revue critique et surtout de ses nombreuses recherches personnelles, l'auteur dégagea certaines conclusions, qui, appelées peut-être à être considérées par beaucoup comme désormais classiques, méritent que nous nous y arrêtions un moment, avant d'entreprendre l'exposé de recherches nouvelles concernant le thymus.

Le résultat essentiel des recherches faites jusqu'à présent est, d'après Hammar, d'avoir établi que les glandes thymiques sont des organes épithéliaux, envahis et remplacés presque en totalité par des lymphocytes ; les corps de Hassal, d'autre part, seraient des différenciations fonctionnelles des cellules épithéliales primitives. Pour distinguer cette théorie de l'ancienne théorie de la pseudomorphose — dont elle est toutefois incontestablement à rapprocher, — Hammar propose de lui appliquer la dénomination de " Infiltration — ou Immigrationslehre „.

Les principaux arguments sur lesquels s'appuie cette théorie de l'Immigration sont : la ressemblance des cellules thymiques

avec les vrais lymphocytes, la même sensibilité envers les rayons X, l'observation de la pénétration d'éléments lymphoïdes dans le thymus en voie de réparation, enfin les recherches de Ritchie (1908) sur un sérum thymolytique, attaquant à la fois les lymphocytes thymiques, spléniques et ganglionnaires.

L'ensemble des faits mis en avant par Hammar peut paraître, à première vue, considérable et même décisif. Il n'en est pas moins vrai que de longues recherches, faites il y a quelques années sur le thymus des reptiles, nous ont conduit à des conclusions diamétralement opposées. A notre point de vue, les petites cellules thymiques sont des éléments particuliers, spécifiques, ressemblant, tout au plus extérieurement, aux vrais lymphocytes ; d'autre part, les cellules myo-épithéloïdes — équivalentes chez les Vertébrés inférieurs aux corps de Hassal des Mammifères — ne dérivent absolument pas de cellules épithéliales primitives, mais bien d'éléments mésodermiques soit interstitiels, soit surtout juxta-vasculaires.

Dans sa revue d'ensemble, Hammar a fort minutieusement critiqué nos recherches, s'efforçant d'en découvrir les points vulnérables, mais estompant malheureusement un peu les arguments, nombreux déjà, que nous faisions valoir en faveur de notre manière de voir.

Estimant que les polémiques sont inutiles et n'ont jamais fait progresser la science, nous nous sommes efforcé, depuis, d'attaquer le problème sous tous ses aspects : nous avons étudié des groupes divers de Vertébrés, nous avons adopté la méthode expérimentale sous diverses formes, nous nous sommes adressé à l'ontogenèse.

Les recherches que nous publions aujourd'hui ne représentent que quelques observations prises dans un ensemble de recherches qui *toutes* nous ont jusqu'à présent confirmés dans notre manière de voir concernant les Reptiles. La discussion détaillée des faits sera reprise à la fin de ce travail, mais nous tenons à affirmer que nous considérons que ce serait reculer, et méconnaître complètement le rôle et l'importance fonctionnelle du

thymus que d'en faire un organe lymphoïde parsemé d'îlots épithéliaux pouvant se réveiller et redevenir actifs.

Nous avons déjà dit dans nos recherches sur les Reptiles, ce qu'il fallait penser de la ressemblance des petites cellules thymiques et des lymphocytes, ainsi que de leur susceptibilité vis à vis des rayons de Röntgen. La pénétration de lymphocytes dans les ébauches thymiques embryonnaires est fort sujette à caution ; peut être peut-on en avoir l'illusion chez les Mammifères ou les Téléostéens, chez lesquels les tissus sont denses et difficiles à déchiffrer ; mais nous croyons, avec Stöhr, que cette théorie ne peut guère être soutenue, chez les Amphibiens par exemple, ou avec Prenant et Saint-Remy chez les Reptiles. Enfin, des expériences faites par Weymeersch (1908), expériences dont nous publierons ultérieurement, en collaboration, les résultats histologiques, nous ont montré qu'un sérum thymotoxique bien fait, altérait spécifiquement le parenchyme thymique, sans léser ni la rate, ni les ganglions lymphatiques ; et nous espérons que des expériences, actuellement en cours, pourront démontrer que l'on peut réaliser la prolifération intense des petites cellules thymiques sans influencer aucunement les vrais lymphocytes.

Si nous prenons l'autre aspect du problème du thymus — les cellules myo-épithéloïdes et les corps de Hassal — nos recherches nous permettent d'être beaucoup plus affirmatif encore : nos anciennes recherches sur le thymus des Reptiles, les recherches que nous allons exposer, des recherches en cours dans notre laboratoire sur le thymus des Oiseaux et surtout nos expériences de greffes thymiques, publiées récemment en note préliminaire (1911) et que nous sommes en train de rédiger en détail, ne peuvent à nos yeux laisser subsister aucun doute sur l'origine des cellules myo-épithéloïdes. La théorie qui les fait dériver du réticulum épithélial primitif ne nous paraît plus guère soutenable, d'autant plus que l'existence de ce réticulum, indiscutable chez les Mammifères, devient, ailleurs, fort problématique, particulièrement chez les Amphibiens.

Ceci dit, voyons ce que l'étude du thymus de l'Axolotl peut nous apporter d'utile en faveur de cette manière de voir.

Le lecteur voudra bien ne pas considérer les pages qui vont suivre comme un essai d'étude d'ensemble du thymus de l'Axolotl. Notre but est plus modeste, il ne s'agit que d'exposer et de commenter certains détails de structure de quelques thymus d'Axolotl, détails qui sont, toutefois, assez suggestifs par eux-mêmes pour mériter quelques pages de description et quelques lignes de commentaires.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE.

Les thymus qui font l'objet de cette étude proviennent de larves d'Axolotl mâles, de 3 à 5 ans, sacrifiées au mois d'Octobre en 1910 et 1911.

Les organes ont tous été fixés au liquide de Bouin alcoolisé, puis traités directement par l'alcool à 95° et inclus à la paraffine.

Les coupes ont été colorées soit par l'hématoxyline et le picro-ponceau de Curtis, soit par la méthode de Mallory avec ou sans coloration préalable par la fuchsine acide, soit enfin et surtout par la triple coloration éosine-hématoxyline au fer vert-lumière, de Prenant.

C'est, de loin, cette dernière méthode qui est la plus recommandable ; les différenciations sont d'une finesse et d'une élection parfaite : seule cette dernière méthode donne à la fois une coloration parfaite et spécifique de la chromatine, des centrioles et des corpuscules basaux, enfin de la substance collagène. Les préparations ainsi obtenues, sont, pour l'Axolotl, d'une clarté et d'une lisibilité parfaites. Les méthodes de Curtis et de Mallory nous ont surtout servi à vérifier la nature collagène de certaines formations.

Toutes nos coupes ont été strictement sériées et les thymus débités entièrement. C'est là un point que nous considérons comme indispensable pour l'étude rationnelle du thymus et que, croyons-nous, certains auteurs ont négligé. Trop souvent des formations que l'on croyait isolées se révèlent ainsi être en connexion avec des formations voisines ; trop souvent aussi, telle cavité que l'on croyait sphérique et isolée se révèle être en réalité tubuleuse et ramifiée. Tous ceux qui étudient un peu attentivement le thymus savent combien il faut se méfier des aspects observés sur une coupe isolée.

PARTIE DESCRIPTIVE

Nous ne reprendrons pas, dans ce travail, l'exposé bibliographique des recherches concernant le thymus en général ou celui des amphibiens en particulier. Nous renverrons le lecteur au travail de Hammar (1910) et à nos recherches antérieures (1909). En ce qui concerne le point spécial qui nous occupe — morphologie normale du thymus de l'Axolotl adulte — la littérature ne nous a guère renseigné que les recherches déjà anciennes de Watney (1881). Cet auteur a remarqué la beauté des éléments cellulaires du thymus de l'Axolotl et signalé — fait qui est à la base des pages qui vont suivre — l'abondance et la grandeur des kystes intra-thymiques chez cette espèce animale. Pour ce qui est des points de détails nous signalerons les indications bibliographiques au cours de l'exposé.

Macroscopiquement le thymus de l'Axolotl se présente sous forme d'un corpuscule arrondi, d'un gris-jaunâtre et du volume d'un pois. Sa surface est généralement marquée par la présence de quelques cellules pigmentées.

Il est situé dorsalement à la limite postérieure du système branchial. Une incision antéro-postérieure des téguments au niveau de la limite supérieure des branchies permet de trouver facilement l'organe.

A l'examen microscopique le thymus se montre entouré d'une mince coque conjonctive. Dans cette coque circulent les vaisseaux sanguins afférents du thymus et de larges veines efférentes; de cette coque partent des trainées fibreuses, les unes assez compactes, et entourant les gros vaisseaux, les autres très fines et très discrètes s'irradiant en un délicat réseau intrathymique.

La vascularisation du thymus de l'Axolotl, au stade où nous l'avons étudiée, est relativement pauvre. La structure des parois vasculaires — abstraction faite des gros troncs intra et sous capulaires — peut être ramenée à un type unique formé 1° d'un

revêtement endothélial, 2° d'une couche d'éléments à fibrilles collagènes, 3° d'un revêtement de cellules " périthéliales „ ou " adventicielles „. Le revêtement endothélial ne paraît pas tapisser de façon continue le conduit vasculaire. Sur de longues portions de vaisseaux il n'est souvent pas possible de mettre en évidence les noyaux endothéliaux. Le revêtement de cellules conjonctives est, par contre, constant ; son épaisseur varie avec l'importance des vaisseaux : autour des capillaires les plus fins, on ne trouve qu'une mince membrane, cependant encore fortement et électivement colorable par le vert lumière, le Van Gieson ou le Mallory. La fragilité de ces vaisseaux paraît être fort grande et il est fréquent — fait que nous avons jadis signalé chez les Reptiles — d'observer des ruptures vasculaires et l'extravasation d'érythrocytes au sein du parenchyme thymique.

Enfin les vaisseaux thymiques se montrent toujours enveloppés d'une sorte de manchon de cellules que nous appellerons " périthéliales „ avec Eberth ou " adventicielles „ avec Weidenreich. Le terme de cellules périthéliales nous paraît toutefois plus adéquat. Il s'agit — comme la suite de ces recherches le montrera — d'éléments doués d'un pouvoir évolutif considérable. Les rapports que ces cellules contractent avec les parois vasculaires peuvent être variés : tantôt elles paraissent se ranger à une petite distance de la paroi vasculaire (fig. 9) ; tantôt au contraire leur taille s'accroit et elles viennent s'accoler intimement aux cellules des tuniques vasculaires. (fig. 11). Le terme de " cellules adventicielles „ peut amener une confusion entre des éléments évoluant en cellules à fibrilles collagènes et intervenant en propre dans la formation de l'adventice et les éléments très particuliers auxquels il nous parait préférable de réserver le terme de " *périthélial* „. C'est ainsi que dans l'étude des vaisseaux thymiques et des phases de leur involution, nous trouverons souvent, accolées, les deux espèces de cellules, les unes nettement adventicielles, les autres juxtaposées aux premières, d'allure et d'évolution très spéciales, et auxquelles nous réserverons le nom de périthéliales.

Il est certain que dans l'état actuel de nos connaissances il

n'est pas possible de faire de la cellule " périthéliale „ une entité morphologique bien définie. C'est ainsi que la nature même de ces cellules paraît être variable : tantôt il s'agirait de cellules migratrices venant se placer, en manchon, autour d'un capillaire, tantôt — comme dans le cas qui nous occupe — il s'agirait de jeunes cellules conjonctives évoluant dans les régions juxta-vasculaires ; le terme de " cellule périthéliale „ devrait, à notre sens, être réservé à tout élément ne faisant pas partie intégrante d'une paroi de capillaire ou de vaisseau de petit calibre, mais proche de ou accolé à cette paroi, et — point essentiel — doué d'un pouvoir évolutif appréciable. C'est dans cet esprit que le terme sera employé dans les pages qui vont suivre.

Si nous passons maintenant à l'examen des éléments cellulaires spécifiques du thymus, nous retrouvons comme toujours, d'une part les petites cellules thymiques, d'autre part de grands éléments épithéloïdes.

Petites cellules thymiques

Les petites cellules thymiques offrent chez l'Axolotl, les mêmes caractères cytologiques que chez les autres vertébrés. Ce sont des éléments de petite taille à cytoplasme très réduit, à noyau sphérique ou ovalaire mais *toujours très riche en chromatine.*

Dans les thymus étudiés par nous, les petites cellules thymiques n'étaient pas disposées en une couche corticale plus dense et une zone médullaire de structure plus lâche, mais au contraire disséminées de façon homogène dans tout l'organe.

Il ne nous a pas été possible, malgré la beauté et la grandeur des cellules de l'Axolotl, de mettre en évidence à l'intérieur du thymus, l'existence d'un réseau correspondant au réseau d'origine épithéliale décrit ou admis classiquement dans la plupart des thymus. Les petites cellules thymiques sont simplement tassées les unes contre les autres entre les travées conjonctives, les tractus vasculaires et les amas épithéloïdes que nous décrirons plus loin. De ci de là s'observe une cellule

étoilée à noyau plus gros et plus clair : un examen attentif démontre toujours qu'il s'agit de cellules conjonctives différenciant nettement de fines travées collagènes spécifiquement colorables.

Un certain nombre de petites cellules thymiques est en voie de karyokinèse ; d'autres cellules, comme il est de règle dans la plupart des thymus, subissent une dégénérescence avec pycnose du noyau amenant la formation des " tingible Körpern „ déjà maintes fois signalés. Ajoutons — c'est là un fait presque universellement admis, mais qu'il est bon de rappeler — que toute l'évolution des petites cellules thymiques parait tenir dans les limites de ces deux stades : prolifération mitotique et désintégration pycnotique. Jamais, chez l'Axolotl pas plus qu'ailleurs, nous n'avons vu de petites cellules thymiques évoluer vers une forme cellulaire nouvelle et différente.

Cellules épithéloïdes.

Dans nos recherches antérieures, nous avons réservé le nom de cellules " myo-épithéloïdes „ à tous les éléments de grande taille, à noyau vésiculeux, à cytoplasme homogène ou strié que l'on rencontre dans le tissu thymique. Nous avons voulu ainsi souligner la parenté étroite — attestée par d'innombrables formes de transition — qui unit ces différentes variétés cellulaires. Aussi est-ce à dessein que nous intitulons ces lignes " cellules épithéloïdes „. C'est que, en effet, dans les thymus d'Axolotl que nous avons étudiés jusqu'à présent, nous n'avons jamais trouvé de grandes cellules ni leiomyoïdes, ni rhabdomyoïdes. Les formations caractéristiques que nous allons décrire à présent, sont toutes constituées par de grands éléments de structure soit homogène, soit grumeleuse, soit finement fibrillée, mais ne renfermant jamais de myofibrilles nettement individualisées. La première chose qui frappe immédiatement lorsqu'on examine un thymus d'Axolotl à un faible grossissement, c'est l'existence au sein du parenchyme thymique de très nombreuses cavités kystiques. Le fait a déjà, comme nous l'avons vu, été signalé par Watney, en 1882.

La fig. 8, reproduisant demi-schématiquement une coupe passant par le centre de l'organe, donne une idée d'ensemble de cette disposition. On peut compter dans cette coupe neuf cavités kystiques de taille relativement grande, plus une quantité de lacunes arrondies, de taille plus restreinte.

Un examen plus attentif nous montre que la présence des cavités kystiques est toujours liée — dans le cas particulier qui nous concerne — à la présence de cellules épithéloïdes, à tel point que l'on peut dire, que là où il n'y a pas de cellules épithéloïdes, il n'y a pas non plus de vésicules intrathymiques. La formation surabondante de celles-ci donne au thymus que nous étudions ici, son allure absolument particulière.

La question du mode de formation et de la signification des vésicules closes intrathymiques est parmi les plus ardues de l'histologie. Des solutions radicalement différentes ont été proposées et il semble bien, d'ailleurs, que le problème puisse comporter plusieurs réponses — Quelques mots d'historique — que les travaux antérieurs de Hammar, et les nôtres permettront de rendre succincts — nous paraissent devoir trouver place ici, pour faciliter au lecteur la compréhension des descriptions et des discussions qui vont suivre.

Il semble que dès les premières observations faites sur le thymus, les histologistes aient été frappés par la fréquence de l'existence de cavités intrathymiques. C'est ainsi que dès 1843 nous les trouvons signalées par Remak, puis observées à nouveau par Bednar (1852), Remak (1855), Watney (1882), Maurer (1886) (1888), S. Mayer (1888), Capobianco (1891), Chiari (1894), Kohn (1895), Tourneux et Verdun (1897), Versari (1898), Ver Eecke (1899), Kürsteiner (1900) Nüssbaum et Machowsky (1902), U. Ebner (1902), Schambacher (1903), Erdheim (1904) Hammar (1905, 1908, 1910), Pensa (1905), Bell (1906), Tarrozi (1906), Rudberg (1907), Simmonds (1908), Cheval (1908), Tourneux (1909), Schaffer (1909), Dustin (1909).

L'origine de ces formations kystiques intrathymiques est malheureusement interprétée de façon très différente par les

histologistes. Le tableau ci-dessous permet de se faire une idée de la diversité des opinions défendues.

Formation des kystes thymiques aux dépens :

des petites cellules thymiques	des Reticulum-zellen	des corps de Hassal	des vaisseaux ou d'éléments conjonctifs intrathymiques	de restes épithéliaux d'origine branchiale
1	2	3	4	5
CHEVAL	HAMMAR	BELL CHIARI SCHAFFER TAROZZI VER EECKE	DUSTIN (R[les]) MACHOWSKY NUSSBAUM WATNEY	V. EBNER ERDHEIM NICOLAS SCHAMBACHER SULTAN VERDUN

Notons que les théories 2 et 3 peuvent être confondues par les auteurs qui admettent la formation des groupements hassalliens aux dépens des Reticulumzellen.

Outre la question de l'origine, le problème des kystes thymiques se présente encore sous d'autres aspects, comprenant l'étude de la paroi de ces kystes, de leur contenu, de leur mode de formation.

A) PAROI. — Deux cas sont à considérer. Dans le premier, le kyste est creusé à l'intérieur d'une seule cellule. Dans le second, plusieurs et souvent de très nombreuses cellules interviennent dans la constitution de la paroi. Ici encore deux éventualités peuvent se présenter : ou bien le kyste est tapissé par un épithélium cylindrique ou cubique très régulier ; c'est le cas de beaucoup de grands kystes que l'on trouve dans les thymus en voie d'involution ; ce sont ces kystes qu'ont particulièrement en vue les auteurs leur attribuant une origine branchiale ; ou bien, au contraire, la paroi est formée de cellules irrégulières, de grande taille, pouvant être fortement aplaties lorsque le kyste est distendu. C'est à ces kystes que s'appliquent particulièrement les théories 2, 3 et 4.

La paroi peut subir des différenciations multiples, c'est ainsi que l'on peut observer l'apparition de cellules muqueuses et

surtout de cellules à cils vibratils, à brosses, à cuticules. Ces dernières différenciations s'observent et ont été signalées par un grand nombre d'auteurs dans toutes les variétés de kystes, depuis les plus petits kystes intracellulaires jusqu'aux grandes cavités à épithélium cylindrique régulier.

B) Contenu. — Le contenu des formations kystiques intrathymiques peut être extrêmement variable. D'une manière générale, deux cas peuvent être envisagés ; ou bien le contenu se compose d'éléments figurés normaux ou en voie d'involution, ou bien au contraire, il se compose de produits amorphes de nature variée.

Dans le premier cas on peut trouver soit de petites cellules thymiques se multipliant normalement et distendant le kyste (*Distensions cysten* de Hammar). La distention peut d'ailleurs être due également à l'accumulation de produits amorphes.

D'autres fois, nous trouvons dans les kystes des leucocytes, des macrophages (Dustin), des débris d'hématies (Watney, Nüssbaum, Machowsky, Dustin) des débris de parois vasculaires (Dustin, 1909), des amas de tissu thymique nécrotique, comprenant de petits cellules thymiques en pycnose (*Sequester-cysten* de Hammar).

Il est beaucoup plus difficile d'être fixé, à peu près exactement, sur la nature des produits amorphes apparaissant à l'intérieur des vésicules intrathymiques.

Beaucoup d'auteurs en ont fait de véritables produits de secrétion, témoignant d'une fonction réelle des corps de Hassal. Nous citerons parmi les partisans de cette opinion Ver Eecke (1898) et Bell (1903). Ce dernier auteur range le produit formé par les corps de Hassal dans le groupe des substances colloïdes.

Nos recherches sur les Reptiles nous avaient fait entrevoir une autre explication de la nature de cette substance dans certains cas particuliers. Devant y revenir souvent dans le cours de ces pages et puiser dans ces considérations des arguments pour les conclusions du présent travail, nous rappellerons ce que nous disions en 1909.

" Quelle est la nature de cette substance ? Elle paraît devoir „ être rapprochée des substances colloïdes signalées dans les „ corpuscules de Hassal, par Bell notamment, dans le thymus „ des Mammifères. Cependant une autre interprétation — que „ nous nous empressons d'ailleurs de présenter comme une „ simple hypothèse — nous paraît possible. Nous avons dé- „ montré l'origine conjonctive des cellules myo-épithéloïdes et „ la possibilité pour certaines cellules de se différencier dans „ la suite et de se transformer en cellules myo-épithéloïdes.

„ D'autre part, nous venons de voir que la substance occu- „ pant les cavités kystiques intracellulaires présente pour le „ vert-lumière et l'éosine du procédé de Prenant, les réactions „ caractéristiques de la substance collagène. Peut-être assis- „ tons-nous ici à la dédifférenciation tardive d'une cellule con- „ jonctive en dégénéresence, cherchant à éliminer la substance „ collagène qui s'est accumulée en elle „.

Ce qui précède montre que, sous le rapport du contenu, les kystes intrathymiques peuvent être aussi différents que sous le rapport de la paroi limitante.

c) Mode de formation. — De l'origine que l'on attribue aux kystes intrathymiques découle naturellement le mécanisme de leur formation.

Le mécanisme se comprend aisément en ce qui concerne les cavités dérivant de résidus embryonnaires branchiaux, conservant leurs caractères primitifs.

Pour Hammar (1908) la formation de certains kystes serait due à l'action de présence sur les cellules du réticulum thymique soit d'un séquestre, soit d'un amas de lymphocytes. Ces cellules répondraient à l'excitation en modifiant leur aspect et en constituant finalement un revêtement continu.

Le mécanisme de la formation des kystes se développant aux dépens de groupements hassalliens, doit être rapporté soit à la secrétion d'une substance quelconque éliminée vers le centre du corpuscule, soit à la nécrose de la partie centrale du corpuscule. Ce dernier mode de formation paraît être fréquent.

Enfin, dans bien des cas, les kystes intrathymiques ont pour

point de départ une vacuole intracellulaire. Cette dernière s'accroît, distend la cellule et peut confluer avec des vacuoles semblables, creusées dans des cellules épithéloïdes voisines. Ce mode de formation a été signalé par Pensa et retrouvé par nous mêmes chez les Reptiles.

Les quelques lignes qui précèdent, montrent la multiplicité des problèmes qui se posent à propos des cavités kystiques intrathymiques et la variété des solutions apportées jusqu'à ce jour à ces problèmes.

*
* *

Nous pouvons à présent aborder la description des dispositions spéciales au thymus de l'Axolotl.

Nous diviserons les cavités kystiques du thymus de l'Axolotl en deux grandes catégories : 1° Les kystes unicellulaires ou intracellulaires. 2° Les grands kystes pluricellulaires.

1. Kystes intracellulaires.

Ces kystes sont extrêmement abondants. Les figures 1, 4, 12 et 14 (Ki) en montrent des exemples.

La forme de ces cavités est sphérique ou ovalaire. Très souvent les kystes prennent l'aspect d'une cavité de forme rigoureusement sphérique, donnant en section l'image d'un cercle parfait (fig. 1 et 20),

Cette première variété de kyste peut se trouver — et c'est une localisation des plus fréquentes — diposée à la périphérie de kystes de grande taille (fig. 1 et 14).

2. Kystes pluricellulaires.

Ces kystes peuvent atteindre une taille considérable et être parfaitement visibles à l'œil nu. Leur forme est très irrégulière. En section transversale leurs contours sont tantôt assez régulièrement ovalaires (fig. 2 et 14), tantôt creusés de dépressions au fond desquelles apparaît souvent, comme nous le verrons, une touffe de cils vibratils (fig. 1 et 9).

Au point de vue de leur forme générale, telle qu'elle apparaît

lorsque l'on suit la série des coupes, ces grandes cavités sont tantôt irrégulièrement sphériques, tantôt assez fortement allongées en fuseau. Souvent, dans ce dernier cas, on peut voir la cavité se diviser à ses extrémités et se ramifier en des cavités plus petites. Nous aurons à revenir plus loin sur l'importance de cette disposition.

Répartition des kystes a l'intérieur du thymus.

Les kystes, quelle que soit la variété à laquelle ils appartiennent, peuvent se remontrer dans toutes les régions du thymus, tant au centre de l'organe qu'au niveau des couches superficielles. Les kystes intracellulaires peuvent se rencontrer isolément au milieu des petites cellules thymiques : le plus habituellement ils sont, comme nous l'avons déjà dit, localisés dans les environs des cavités de grande taille. De petits kystes intracellulaires se rencontrent aussi assez fréquemment dans le voisinage immédiat de certains vaissaux sanguins (fig. 12 Ki et Ki +).

Les kystes de grande taille sont toujours creusés au sein d'un massif de grandes cellules épithéloïdes. Ils peuvent, eux aussi, se rencontrer aussi bien sous la capsule thymique, qu'au centre de la glande. Plusieurs kystes de grande taille peuvent se développer dans la même traînée épithéloïde. Si l'on suit la série des coupes, on voit une première cavité se rétrécir, disparaître, être remplacée par une tige pleine formée de cellules épithéloïdes, puis peu à peu une nouvelle grande cavité apparaître. Ces cavités sont très fréquemment dans le voisinage ou même dans le prolongement de tractus vasculaires, et nous aurons à voir, dans les pages qui suivront, quels sont les rapports exacts qui existent entre vaisseaux sanguins et cavités kystiques intrathymiques.

Nous étudierons successivement la constitution de la paroi des kystes, le contenu des kystes et enfin leur mode de formation et leur signification.

1. Constitution de la paroi des kystes intrathymiques.

Comme la suite de cet exposé le montrera, il n'y a pas chez

l'Axolotl de différence fondamentale entre la structure de la paroi des kystes intracellulaires et celle des grandes cavités pluricellulaires. Les mêmes détails cytologiques se rencontrent exactement dans les deux cas.

La fig. 1 nous montre en *Ki* un mode de constitution élémentaire de la paroi kystique. Une grande cellule épithéloïde s'est creusée d'une vacuole. Celle-ci distend son cytoplasme qui semble réagir en différenciant une fine formation d'aspect cuticulaire, se présentant après la coloration de Prenant, sous forme d'une strie d'un vert émeraude franc. Le kyste lui-même paraît distendu par une substance grumeleuse fixant, elle aussi, énergiquement le vert-lumière, et sur la nature de laquelle nous aurons à nous prononcer ultérieurement.

Deux formations analogues sont représentées fig. 12 (*Ki*).

La fig. 20 nous montre dans sa partie centrale, une complication de plus. La fine cuticule signalée à la fig. 1, fait place ici à une sorte de bordure très nette, épaisse et présentant toujours le caractère histochimique intéressant, de fixer fortement le vert-lumière.

L'apparition d'une formation nouvelle — la ciliation et ses dérivés — pouvant se combiner de diverses façons avec les dispositifs d'aspect cuticulaire que nous venons de signaler, va porter à son plus haut degré de complication la stucture de la paroi des kystes.

La fig. 4 nous montre un des aspects de cette complication dans le cas d'un kyste intracellulaire. Nous y voyons une grosse cellule épithéloïde remarquable par sa taille, son noyau vésiculeux clair, avec un ou deux pseudo-nucléoles volumineux. Cette cellule est creusée d'une vaste cavité dont la paroi peut se subdiviser en 2 zones. Une première zone juxtanucléaire : elle est déprimée en cupule ou en " cratère „ pour employer le terme de Hammar ; à ce niveau s'est différenciée une houppe de cils vibratils. Une seconde zone correspondant à toute l'étendue restante de la paroi du kyste, est recouverte d'une sorte de croûtelle, d'épaisseur inégale et formée d'une substance granulo-filamenteuse fixant énergiquement et électivement le vert

lumière. Au centre de la vacuole s'observe un gros grumeau d'une substance d'aspect absolument identique. Les fig. 1 et 14 nous montrent des exemples de structures analogues au niveau de la paroi de grands kystes pluricellulaires.

Dans le cas du kyste reproduit par la fig. 1, nous voyons un grand nombre de cellules épithéloïdes — toujours facilement reconnaissables à leurs caractères cytologiques — prendre part à la constition de la cavité. La majorité des cellules différencie à la surface la croûtelle fixant le vert lumière, telle que nous l'avons signalée à propos de la fig. 4. En deux points du kyste nous voyons, de plus, apparaître des houppes ciliées. L'une des houppes s'implante au fond d'une dépression cratériforme et est formée de cils à disposition tourbillonnée; l'autre prend naissance sur un plateau assez régulier.

La fig. 4 nous montre un très grand kyste dont une grande partie de la paroi est couverte de cils, l'autre partie étant tapissée d'une croûtelle caractéristique. En Ki 1 et Ki 2 se voient de petits kystes intracellulaires analogues à ceux décrits plus haut.

La présence de cils vibratils et la présence de la croûtelle ne sont pas exclusives l'une de l'autre. La fig. 17 reproduisant une portion de la paroi d'un grand kyste est particulièrement instructive à cet égard. La portion superficielle, dessinée en gris plus sombre, représente la bordure caractéristique formée par cette substance fixant électivement le vert lumière et — nous le verrons plus loin — le bleu d'aniline de la méthode de Mallory. Or nous voyons que c'est au milieu de cette bordure que s'observent les corpuscules basaux d'où partent les cils du revêtement vibratil.

Signalons encore brièvement (ayant à y revenir plus loin) dans le même ordre d'idées, les dispositions représentées par les fig. 5 et 6. Il s'agit de cellules bordant de grands kystes pluricellulaires. La première nous montre une ciliation typique, puis entre la bordure ciliée et le noyau, une sorte d'enclave de substance ayant le même aspect et les mêmes propriétés microchimiques que la substance formant la croûtelle superficielle.

La seconde nous montre cette même croûtelle au sein de laquelle s'observe, au centre d'une microscopique vacuole, un granule de nature centriolaire.

Nous avons maintenant à aborder d'un peu plus près l'étude de l'agencement des cellules constituant les kystes, l'examen des dispositions ciliaires, de leurs variantes, de leur répartition, la définition de la nature des croûtelles de revêtement.

Nous avons vu que les cavités kystiques se trouvaient toujours creusées au sein d'une cellule épithéloïde ou d'un massif de cellules épithéloïdes.

Ces cellules — tantôt indépendantes les unes des autres, tantôt disposées en plages syncytiales irrégulières — peuvent environner, plus ou moins parfaitement, la cavité centrale. Souvent la cavité paraît simplement distendre les cellules épithéloïdes, les écarter les unes des autres, mais ne pas modifier considérablement leur aspect. C'est le cas, par exemple, pour les kystes représentés par les fig. 1 et 2. Mais d'autres fois, et c'est le cas pour les kystes plus anciennement formés et, partant, plus parfaitement organisés, — les cellules limitantes s'organisent et se disposent en un véritable épithélium. Les fig. 13 et 14, représentant deux coupes successives à travers le paroi d'un kyste, sont instructives à cet égard. La fig. 13 nous montre une coupe tout à fait tangentielle à la paroi. Cette coupe passe par la base des cellules limitantes; nous voyons qu'un certain nombre de ces cellules a pris une forme régulièrement polygonale ; les cellules s'accolent étroitement les unes aux autres de manière à constituer un véritable épithélium. La cellule marquée d'une croix présente, deplus, un caractère intéressant : elle paraît unie aux cellules voisines par une série de petits ponts intercellulaires ; cette disposition s'observe d'ailleurs rarement ; le semis de granulations ponctiformes que l'on peut voir à ce niveau sur notre dessin, correspond à la coupe transversale des racines ciliaires. Cette fig. 13 est encore instructive à un autre point de vue : elle nous montre que toutes les cellules épithéloïdes de la paroi du kyste, ne prennent pas cet aspect véritablement épithélial ; les cellules plus périphériques sont, en effet,

plus irrégulières et généralement pourvues de prolongements qui leur donnent un aspect étoilé. La fig. 14 nous montre la surface même des cellules représentées par la fig. 13. On aperçoit l'implantation des cils et les corpuscules basaux qui se présentent sous forme de granulations plus volumineuses, fixant énergiquement l'hématoxyline de HEIDENHAIN. Nous reviendrons dans un moment sur ces dispositions.

Les ciliations qui se différencient au niveau des parois des kystes intrathymiques, peuvent affecter les dispositions les plus diverses : leur complexité structurale est, de plus, extrêmement variable.

Les fig. 1, 4, 5 et 14, nous montrent la disposition la plus usuelle : au niveau de la bordure ciliée, le cytoplasme présente une fine bordure de cytoplasme plus condensé et plus chromophile ; à ce niveau s'observe une rangée de corpuscules basaux généralement allongés en bâtonnets : ces corpuscules sont surmontés de cils longs et grêles. Dans des cas plus rares on peut observer une double rangée de corpuscules basaux. Le kyste de droite de la fig. 20 nous en montre un exemple. D'autres fois, on peut observer avec une parfaite netteté des racines ciliaires convergeant en pinceau, fig. 15 et 16. Enfin on peut observer le cas du diplosome typique donnant naissance à la fois à un cil et à une racine ciliaire. Le cil situé le plus à droite, dans la fig. 17, nous montre un exemple de cette disposition. Rappelons encore à propos de cette figure, que les corpuscules basaux peuvent se trouver inclus dans les croûtelles de bordure.

Dans certains cas, les corpurcules basaux peuvent disparaître et l'on peut alors assister à la formation de véritables bordures en brosse telle que celle représentée par la fig. 21.

Nous signalerons encore, pour y revenir dans un moment à propos du développement des cils, le cas singulier représenté par la fig. 18. Les cils sont implantés comme d'habitude sur une rangée de corpuscules sidérophiles ; mais certains cils présentent sur leur trajet un nouveau renflement sidérophile absolument identique aux corpuscules basaux. Nous verrons l'interprétation que l'on peut proposer pour expliquer cette structure.

Les cils eux-mêmes peuvent varier de longueur et d'aspect. Tantôt ils sont longs, rectilignes et sensiblement parallèles ou légèrement convergents, s'ils sont implantés au fond d'un cratère (fig. 1, 4, 5, 15, 19). Tantôt — et le cas est fréquent pour les petits kystes intracellulaires régulièrement sphériques — les cils affectent une disposition tourbillonnaire caractéristique (fig. 1, 14, 20).

Enfin, (fig. 16), les cils peuvent cheminer parallèlement dans la partie inférieure de leur trajet, pour se mêler en tourbillon au niveau de leurs extrémités libres.

Bref, par ce qui précède, nous voyons que la ciliation peut affecter tous les aspects et tous les degrés de complication imaginables.

Disons, à présent, quelques mots de la localisation des bordures ciliées dans les kystes intrathymiques.

Nous pouvons distinguer, d'une part, des kystes complètement ciliés, d'autre part des kystes partiellement ciliés. Cette seconde variété est de loin la plus répandue.

Les kystes complètement ciliés sont toujours des kystes de petite taille et plus généralement des kystes intracellulaires. Les cils y affectent souvent une disposition tourbillonnaire caractéristique, telle que celle représentée dans la partie droite de la fig. 20.

Parmi les kystes partiellement ciliés, nous pouvons distinguer à nouveau les kystes unicellulaires et les kystes pluricellulaires. Parmi les premiers, la disposition la plus habituelle est celle représentée par la fig. 4, et par la fig. 14 Ki 1 et Ki 2. La cavité intracellulaire présente — toujours du côté du noyau — une dépression en forme de cupule ou de cratère du fond de laquelle pousse une touffe de cils.

Dans le cas des kystes pluricellulaires, les cils sont implantés de manière très variable et très irrégulière.

La fig. 1 nous a déjà montré un exemple de cette implantation.

Les fig. 13 et 14 représentant 2 coupes successives à travers la paroi d'une même cavité, nous montrent plus exactement

comment s'implantent les cils sur les cellules tapissant cette cavité.

En 13, les deux cellules marquées d'une croix sont atteintes par la coupe, soit immédiatement au-dessus du noyau, soit au niveau du pôle supérieur de celui-ci. Ces deux cellules montrent en coupe transversale les racines ciliaires localisées, comme on le voit, à une partie du cytoplasme.

La cellule *c. ep.* de la même figure, nous montre au niveau de la coupe suivante (fig. 14 +) des dispositions plus caractéristiques. Le rasoir du microtome a passé exactement au niveau des corpuscules basaux et de la base d'implantation des cils. Nous voyons que ces derniers ne recouvrent pas toute la surface de la cellule, mais sont, au contraire, disposés en un semis assez irrégulier. Une disposition coronaire des cils est représentée en *c. v. tr.* dans la même figure.

Deux points méritent de retenir quelques instants notre attention : Quelles sont les causes qui provoquent l'apparition de la ciliation ? Comment se développe l'appareil cilié des kystes intrathymiques ?

On s'accorde généralement et c'est, par exemple, l'opinion défendue par Hammar et nous-même (1909), pour admettre que l'apparition de la ciliation est due à l'irritation de la surface de la cellule par la présence d'un corps étranger. Cette proposition paraît tout particulièrement admissible, en ce qui concerne le thymus. Nous constatons au centre de la plupart des kystes ciliés, soit l'existence d'une substance amorphe d'aspect colloïdal (fig. 4), soit la présence de cellules ou de débris cellulaires (fig. 1). Dans certains cas cependant et particulièrement en ce qui concerne les petits kystes sphériques à ciliation tourbillonnaire, le centre de la cavité paraît être libre, ou tout au moins, rempli d'un liquide incolore. Il faudrait, toutefois ne pas se hâter d'abandonner l'hypothèse énoncée plus haut. Il se peut très bien qu'au moment où l'on observe le kyste cilié, sa cavité soit libre, sans que cela implique nécessairement que l'apparition de la ciliation n'ait pas été liée à la présence d'un agent d'irritation qui a, dans la suite, été détruit

ou résorbé. L'étude de la formation des kystes nous montrera plus loin, le bien fondé de cette proposition.

Une question connexe à celle que nous venons de traiter est celle qui a trait à la spécificité des cellules ciliées. Un agent d'excitation approprié peut-il provoquer l'apparition de la ciliation à la surface de toute cellule, ou bien, au contraire, faut-il que cet agent agisse sur une cellule pourvue d'une potentialité spécifique pouvant seule permettre l'apparition de cils ? On sait que la notion de la spécificité des cellules ciliées tend à être abandonnée aujourd'hui, particulièrement à la suite des travaux de Prenant.

Pour trancher dès à présent la question, il faudrait que nous fussions renseignés sur l'origine et la nature des cellules ciliées kystiques du thymus de la larve d'Axolotl. Disons, toutefois, que la suite de ce travail viendra nous démontrer que les celiules ciliées du thymus ne sont aucunement des cellules qui, par leur origine, pourraient être considérées comme des éléments potentiellement ciliés.

Comment se développe la ciliation, et une fois apparue comment se conserve-t-elle ?

Chacun connait l'hypothèse ingénieuse, défendue simultanément par Henneguy (1896, 1897, 1904) et par Lenhossek (1898) : cette hypothèse identifie les corpuscules basaux des appareils ciliés à des dérivés des centrosomes. Nous n'avons pas l'intention de reprendre ici la question, d'ailleurs récemment très bien mise au point et rajeunie par H. Erhard (1911) dans les " Ergebnisse „ de Merkel et Bonnet.

Rappelons que cette hypothèse repose sur une série de faits d'observation parmi lesquels nous citerons : les spermatocytes de certains papillons présentant des centrioles en rapport simultanément avec des cils et avec le fuseau, la comparaison entre les spermatozoïdes et les cellules ciliées, l'absence du centre cellulaire dans les cellules ciliées présentant des bordures ciliées actives et des corpuscules basaux, et partant l'absence de caryocinèse dans ces cellules, enfin l'étude du développement de certains Flagellates.

Nos recherches peuvent-elles apporter des arguments nouveaux pour ou contre cette manière de voir ?

En ce qui concerne les phénomènes de caryocinèse de cellules ciliées, nous ne pouvons apporter de faits nouveaux à la solution de la question : les cellules épithéloïdes aux dépens desquelles se différencient les ciliations n'entrent, en effet, jamais en cinèse, du moins dans toutes les observations que nous avons faites jusqu'à présent chez l'Axolotl.

Il est très difficile de déceler le centre cellulaire des grandes cellules bordant les kystes. Dans quelques cas, nous avons pu le mettre en évidence, grâce à l'emploi de la méthode de Prenant.

La fig. 6 nous montre une cellule présentant dans sa région superficielle, une petite vacuole renfermant un granule centriolaire.

Malgré les recherches les plus minutieuses nous n'avons pu assister à la multiplication initiale de cet appareil primitif et à sa transformation en multiples corpuscules basaux.

Comme phase suivante de la formation des cils, nous devons passer à l'examen des dispositions représentées par la fig. 17.

Cette figure représente une portion de la paroi d'une cavité de grande dimension. Les cellules qui la bordent sont aplaties et limitées vers la cavité par une croûtelle caractéristique fixant le vert lumière. Au milieu de cette croûtelle s'observent les corpuscules basaux. Ceux-ci sont disposés en série discontinue ; quelques-uns d'entre eux seulement donnent naissance à un cil souvent court et visiblement en voie de croissance. Enfin, dans la partie droite de la figure, nous trouvons un diplosome typique avec cil et racine ciliaire. Bientôt les corpuscules basaux se multiplient, s'orientent en file continue et donnent naissance à une ciliation régulière.

Après un certain temps les cils se fanent et disparaissent. Les fig. 4, 5, 15, 19 montrent des cils en pleine activité, leurs contours sont nets, leurs trajets parallèles entre eux. Les cils croissent, s'allongent et bientôt leurs extrémités s'infléchissent puis s'emmêlent (*fig. 16 et 20*, à gauche). Enfin, les cils peuvent dispa-

raître complètement. La partie droite de la fig. 20, montre un petit kyste dont les cils flétris se trouvent à l'état de débris au centre de la cavité. Quelle est, dans cette éventualité, le sort des corpuscules basaux ? Tantôt ils disparaissent ; c'est, par exemple, le cas lorsque s'édifie une bordure en brosse, telle que celle de la fig. 21. D'autres fois, les corpuscules persistent (*fig. 20*, kyste de droite) et donnent naissance à une nouvelle poussée ciliaire.

Enfin, il semble que les corpuscules puissent se dédoubler horizontalement et donner naissance à une nouvelle ligne de corpuscules. C'est ainsi que le kyste de gauche de la fig. 20 nous montre une ciliation en voie de flétrissement. Sur une partie du pourtour du kyste, les corpuscules basaux se sont dédoublés en diplosomes. Dans le même ordre de faits, la fig. 18 représente une disposition fort curieuse que nous avons pu observer : les cils prennent naissance au niveau de corpuscules basaux tout à fait typiques ; dans une première partie de leur trajet les cils sont nets, rectilignes, puis brusquement ils présentent une nodosité nettement sidérophile et absolument semblable aux corpuscules typiques ; au-dessus de ce nouveau corpuscule s'observe l'extrémité libre du cil, qui, elle, paraît flétrie et irrégulière. Il semble bien qu'une première génération de corpuscules s'est trouvée supplantée par une génération nouvelle, puis entraînée à l'extérieur par la croissance des cils issus des nouveaux corpuscules basaux.

C'est, croyons-nous, la première fois qu'un fait de cet ordre se trouve signalé. Son intérêt évident, montre tout le parti que l'on pourrait tirer d'une étude approfondie des ciliations thymiques de l'Axolotl, étude que le cadre et le but de ce travail ne nous permettent pas d'aborder ici en détail.

Nous avons vu précédemment que les kystes intrathymiques de l'Axolotl, présentaient au niveau de leur paroi, outre des zones ciliées, un revêtement fixant fortement le vert lumière par la méthode de Prenant et pouvant même se superposer à l'appareil ciliaire. Quelle est la nature de ce revêtement que nous montrent particulièrement bien les fig. 1, 4, 6, 15, 16, 17.

La nature de la substance constituant ce vêtement ou mieux ces croûtelles, comme nous les appellerons, dépend en grande partie de la nature et de l'origine que l'on attribue aux cellules limitant les kystes. Or ce problème sera traité ultérieurement.

Disons, dès maintenant, que la substance formant ces croûtelles, fixe énergiquement et spécifiquement tous les colorants des substances collagènes. C'est ainsi que le vert lumière de la méthode de Prenant, s'y fixe avec une grande pureté et une grande énergie ; mais on sait que ce colorant peut, dans les mêmes conditions, se fixer sur le mucus. Aussi avons-nous eu recours aux procédés de Van Gieson, de Curtis, de Mallory. Cette dernière méthode, particulièrement élective, nous a montré des images absolument superposables à celles fournies par la technique de Prenant.

Nous attirons particulièrement l'attention sur les *fig. 2* et *2b.*, dont nous aurons à reparler dans la suite.

Ajoutons qu'une substance de réaction identique peut se trouver à l'intérieur des kystes, (*fig. 2* et *4*), ou bien même à l'intérieur de cellules bordantes (*fig. 5*).

Nous ne retiendrons, pour le moment, que ce fait essentiel : la substance imprégnant la surface des cellules des kystes présente les réactions microchimiques caractéristiques du collagène.

II. Contenu des kystes intrathymiques.

Les kystes intrathymiques peuvent renfermer, soit des substances amorphes, soit des éléments figurés.

Dans le premier cas, nous avons sous les yeux une substance se présentant sous forme d'un gros globule d'aspect homogène ou granuleux, tel que le montrent les fig. *1 Ki*, *3 Ki* et *4*. D'autres fois, la substance intrakystique se présente sous forme de grumeaux irréguliers ou sous un aspect grossièrement poussiéreux (fig. 2).

Rappelons que des aspects analogues peuvent se rencontrer également chez les Reptiles (Voir fig. *41* et *41b.*, Dustin, 1909).

Cette substance intrakystique présente des réactions microchimiques tout à fait caractéristiques : la méthode de Prenant, la colore en vert franc, le Van Gieson et le picro-ponceau de Curtis en rouge, le Mallory, en bleu intense, le Magenta picro-bleu de Cajal et Poll, en bleu-vert intense.

Cette substance se rapproche donc très étroitement du groupe des substances collagènes. Nous verrons ultérieurement que l'étude de l'origine des cellules kystiques viendra étayer cette manière de voir.

Lorsque les cavités kystiques intrathymiques renferment des éléments figurés, ceux-ci peuvent être de nature variée et se présenter dans des états de conservation fort différents.

De petites cellules thymiques peuvent être incluses à l'intérieur du kyste; chez les animaux que nous avons étudiés, les cellules entrent dans ce cas rapidement en pycnose.

Les éléments figurés que l'on rencontre le plus habituellement au centre des cavités sont des érythrocytes et des leucocytes.

Les premiers sont généralement en voie de dégénérescence : le noyau, est ou pycnotique ou chromolytique, le cytoplasme est irrégulier et comme fripé. Ces érythrocytes disparaissent très rapidement et deviennent la proie des macrophages.

Les leucocytes s'observent très fréquemment à l'intérieur des kystes, alors qu'ils sont plutôt rares à l'intérieur du tissu thymique chez l'Axolotl. Ils rappellent beaucoup par leur aspect les images que nous ont fourni les thymus de Reptiles et particulièrement de l'Orvet (*fig. 24* Dustin 1909). Ces leucocytes absorbent les détritus de substance amorphe ou d'éléments figurés qui se trouvent au centre des cavités (*fig. 1*). Il, en résulte que ces leucocytes finissent par être bourrés d'enclaves fixant les colorants caractéristiques du collagène. A côté de ces enclaves on en trouve d'autres, sidérophiles, qui ne sont que des débris de noyaux en pycnose (*fig. 1 et 7*).

Chez l'Axolotl, comme chez les Reptiles et les Amphibiens que nous avons étudiés, ce sont bien, semble-t-il, les leucocytes qui absorbent les débris cellulaires laissés au centre de l'organe par les phénomènes successifs d'évolution et d'involution.

Nous n'avons jamais trouvé dans le matériel que nous avons étudié, de petites cellules thymiques proliférant au sein d'une cavité et produisant une distension kystique.

De l'étude du contenu des cavités kystiques du thymus de l'Axolotl nous retiendrons particulièrement les faits suivants :

1° Ces cavités renferment souvent une substance ayant toutes les propriétés histochimiques des substances collagènes.

2° Ces cavités peuvent renfermer des érythrocytes en voie de destruction.

3° Ces cavités renferment des leucocytes se chargeant des débris intrakystiques.

Nous verrons bientôt l'importance que présentent ces trois propositions pour la compréhension de l'origine des cellules kystiques.

III. — Origine et mode de formation des cavités kystiques.

Nous touchons, avec cette question, au point capital de cette étude. Les tissus de l'Axolotl, grâce à la beauté et à la grandeur de leurs cellules, permettent de trancher avec certitude l'origine des éléments délimitant les kystes, et secondairement, d'établir la signification et la valeur morphologique réelles des éléments épithéloïdes ou de leurs dérivés.

Si, remontant aux premières pages de ce travail, nous jetons un coup d'œil sur les différentes propositions émises au sujet de la formation des cavités kystiques, nous pouvons d'emblée en écarter tout une série, comme ne cadrant aucunement avec les faits observés chez l'Axolotl.

1. *Les cellules délimitant les kystes proviennent-elles des petites cellules thymiques ?*

Cette hypothèse ne peut se soutenir en ce qui concerne l'Axolotl.

Les cellules kystiques se différencient nettement des petites cellules thymiques par leur taille, les caractères de leur noyau, les réactions du cytoplasme. D'autre part, il est absolument impossible de trouver des stades intermédiaires qui permettraient d'établir une filiation entre les deux espèces cellulaires.

2. *Les cellules délimitant les kystes proviennent-elles de restes de tubes épithéliaux d'origine branchiale ?*

Cette opinion ne cadre pas davantage avec les faits observés chez l'Axolotl. Le thymus de ces animaux étant assez petit, il est facile de le débiter toujours en série complète ; or, jamais nous n'avons pu trouver ni dans le thymus, ni à sa périphérie, des formations rappelant des tubes épithéliaux. Chez les jeunes larves, les thymus sont constitués presqu'uniquement de petites cellules thymiques ; les formations kystiques se développent ultérieurement aux dépens d'éléments nouveaux, importés dans l'organe. L'origine branchiale, très applicable, à notre avis, à certains kystes à épithélium régulier du thymus des Mammifères ne peut se soutenir un seul instant en ce qui concerne l'Axolotl.

Trois hypothèses restent donc en présence : les kystes proviennent soit des " Reticulumzellen „ de Hammar, soit des corps de Hassal, soit enfin d'éléments vasculo-conjonctifs intrathymiques.

Nous pouvons envisager simultanément les deux premières propositions. Nous savons, en effet, que pour Hammar et pour ceux qui attribuent aux corps de Hassal une origine épithéliale endodermique — ou ectodermique dans le cas des thymus d'origine mixte, — les cellules hassalliennes ne sont que des cellules du reticulum primitif, cellules qui se sont groupées, puis modifiées de diverses manières.

D'autre part, les cellules que nous avons décrites chez l'Axolotl, ont tous les caractères des cellules épithéloïdes existant dans tous les thymus. Or, nous avons démontré (1909) l'existence de tous les intermédiaires, soit entre les cellules épithéloïdes et les cellules myoïdes, soit entre les cellules épithéloïdes et les cellules des groupes hassalliens.

Que des kystes puissent se développer au centre de corpuscules de Hassal, le fait est banal. Aussi le seul problème que nous ayons à nous poser à ce propos est le suivant :

3. *Les cellules bordant les kystes — cellules équivalentes chez l'Axolotl aux cellules épithéloïdes et aux cellules hassalliennes —*

ont-elles pour origine le reticulum primitif d'origine épithéliale, les " Reticulumzellen „ de HAMMAR ?

Dans notre travail concernant les Reptiles (1909), nous avons déjà souligné les invraisemblances auxquelles se bute cette manière de voir. Nous disions alors (page 194) :

" L'origine de cellules d'aspect épithélial — les cellules „ hassalliennes — devait, semble-t-il, être recherchée parmi „ des cellules épithéliales.

„ L'apparente évidence de cette proposition, devait faire „ laisser dans l'oubli les théories adverses dont la démonstra- „ tion moins aisée, détournait l'attention.

„ Il est certain que l'habitude prise dans l'étude de la plu- „ part des organes, de décider de l'origne d'une cellule à son „ aspect, a conduit, en ce qui concerne le thymus, à de nom- „ breuses erreurs.

„ Toujours est-il que le grand nombre des histologistes „ modernes continue à voir dans les corps de Hassal des „ formations d'origine épithéliale. Nous citerons parmi les plus „ récents : STÖHR, BELL, VER EECKE, HAMMAR, MINTENS, „ SCHAFFER.

„ Pour tous ces auteurs, c'est aux dépens du reticulum „ dérivant de l'ébauche thymique épithéliale, que se constituent „ les cellules hassalliennes ou myo-épithéloïdes. Les principaux „ arguments invoqués en faveur de cette manière de voir ont „ trait : 1° à l'aspect épithélial de ces cellules ; 2° aux rapports „ existant entre ces cellules et des cellules étoilées éparses „ dans le parenchyme thymique.

„ Examinons séparément ces deux propositions :

„ En ce qui concerne la première, il nous paraît inutile „ d'insister sur la valeur qu'il faut attribuer à l'aspect d'une „ cellule. Il faudrait n'avoir jamais eu sous les yeux de coupe „ de sarcome épithéloïde, pour attribuer une origine épithé- „ liale à toute cellule à protoplasme abondant et à noyau „ vésiculeux. D'ailleurs, si les cellules des corps de Hassal ont „ chez les mammifères, des analogies de forme et de structure „ avec des cellules épithéliales, nous avons vu que certaines

„ formes de cellules myo-épithéloïdes des Reptiles, les cellules
„ striées notamment, rappellent bien plus exactement des
„ formes cellulaires de la lignée mésodermique.

„ Quant à la seconde proposition, les rapports existant
„ entre les cellules de Hassal et les cellules étoilées, rapports
„ soutenus par les uns, niés par d'autres (Pensa, par exemple)
„ peuvent se démontrer dans un grand nombre de cas. Mais,
„ ce qui devient beaucoup plus difficile à démontrer, c'est
„ l'origine épithéliale des cellules étoilées. L'argument qui
„ consiste à dire que ces cellules ne prennent pas les colorants
„ électifs du tissu conjonctif dit est sans valeur, et cela à un
„ double point de vue : 1° parce que certaines de ces cellules
„ étoilées fixent le Van Gieson, le Prenant ou le Mallory;
„ 2° parce qu'il n'est pas indispensable qu'une cellule ait déjà
„ différencié de la subtance collagène pour être reconnue comme
„ cellule conjonctive. „

L'étude du thymus de l'Axolotl nous a fortifié dans cette manière de voir. Examinons en effet ce qu'il faut penser de l'existence et surtout de la préexistence d'un réticulum primitif, dans le thymus de l'Axolotl et ensuite l'opinion qu'il convient de se faire de la nature des grandes cellules étoilées, en rapport avec les cellules épithéloïdes et les cellules kystiques.

Peut-on reconnaître, dans le thymus de nos larves d'Axolotl, ce réticulum primitif? Entre les noyaux des petites cellules tymiques, facilement reconnaissables, on observe des noyaux plus volumineux, ovalaires, assez clairs, pourvus d'un ou de plusieurs gros nucléoles. Sont-ce là les noyaux des Reticulumzellen ?

Nous répondrons par la négative et ce pour plusieurs raisons. Tout d'abord ces cellules sont beaucoup plus rares chez ces jeunes animaux que chez les adultes. S'il s'agissait de cellules d'origine embryonnaire, c'est évidemment le contraire que l'on se serait attendu à trouver.

Ensuite ces cellules ne sont pas distribuées dans l'organe, de façon à pouvoir y dessiner un réticulum fondamental; elles sont

irrégulièrement réparties, abondantes près des tractus conjonctifs ou vasculaires, laissant ailleurs de grandes régions du thymus uniquement occupées par les petites cellules thymiques.

Enfin, et surtout, leurs réactions, leur structure, leurs rapports en font indiscutablement des éléments conjonctifs.

1° *Leur structure et leurs réactions.* — Lorsque ces cellules sont jeunes, elles présentent un cytoplasme étoilé, finement granuleux. Bientôt nous voyons des fibrilles se dessiner dans la cellule et dès ce moment, nous voyons cette cellule fixer énergiquement et électivement les colorations spécifiques du tissu conjonctif.

Les fig. 2 *b* et 2 *c* nous montrent quelques exemples de ces cellules. Nous ne voyons guère comment on pourrait leur dénier une origine et une nature conjonctive.

Nous avions déjà fait des observations analogues chez les Reptiles. Hammar avait émis l'opinion (1910, page 127) :

" Hier handelt es sich wohl mit recht grosser Sicherheit um „ fibriliär differenzierte Epithelien, nicht um Bindegewebs- „ züge. „

Nous ne pouvons qu'admirer la " très grande certitude „ de Hammar, alors surtout qu'il s'agit de nos propres préparations dans lesquelles nous nous croyons à même de distinguer une cellule conjonctive d'une cellule épithéliale.

Le même auteur trouve très admissible que des cellules de l'ébauche épithéliale branchiale différencient des fibrilles musculaires. Peut-être sera-t-il aussi d'avis que ces cellules puissent différencier des fibrilles conjonctives ? Dans ce cas, le réticulum serait sauf. Nous doutons cependant que l'on puisse émettre pareille hypothèse et nous préférons admettre la nature conjonctive, si évidente, des cellules que nous étudions, plutôt que de les faire dériver, à la suite de transformations bien inattendues, des cellules d'un réticulum dont l'existence parait d'ailleurs bien problématique chez les Amphibiens.

Les rapports que contractent les cellules étoilées intrathymiques suffiraient d'ailleurs à lever tous les doutes à cet égard. Nous les voyons se continuer directement avec les formations

conjonctives périvasculaires (fig. 2*b* et 2*c*) ou les travées conjonctives intra ou périthymiques. Il est vrai, cependant, que Hammar dans ses recherches sur le thymus des Téléostéens, baptise du nom de " Reticulumzellen „ une cellule dont les fibrilles se continuent directement avec la basale conjonctive enveloppant tout l'organe.

Ce qui précède nous conduit à rejeter catégoriquement l'origine réticulaire des grandes cellules étoilées du thymus de l'Axolotl et de toutes les formations que nous allons en voir dériver.

Il en résulte nécessairement, qu'à notre avis, les cellules kystiques ou les cellules hassalliennes de l'Axolotl n'ont rien de commun avec les soi-disant cellules réticulaires issues de l'ébauche épithéliale primitive.

Il ne nous reste plus qu'à envisager la dernière hypothèse.

4° *les cellules aux dépens desquelles se constituent les kystes intrathymiques de l'Axolotl, sont de nature conjonctive et souvent d'origine vasculaire.*

Nous rappellerons que cette opinion fut soutenue jadis par Affanassiew, puis reprise plus récemment par Nüssbaum, Machowsky, et enfin, redémontrée et modifiée par nous-même (1909).

Cette manière de voir est-elle applicable à l'objet de la présente étude? C'est ce que nous allons pouvoir facilement démontrer, et qui plus est, nous estimons que, vu la netteté des faits observés chez l'Axolotl, faits qui viennent corroborer entièrement les résultats décisifs que nous a fourni l'étude des greffes thymiques chez les Amphibiens, nous estimons, disons-nous, qu'il n'est plus guère possible de nier encore, en ce qui concerne les Reptiles ou les Amphibiens, la nature conjonctive de toutes les formations épithéloïdes ou de leurs dérivés.

Nous pouvons distinguer deux cas dans la genèse des cavités kystiques :

1° Le kyste se développe au dépens d'une cavité quelconque préexistante.

2° Le kyste provient du développement d'une cavité néoformée.

Y a-t-il chez l'Axolotl des kystes rentrant dans la première catégorie ?

L'involution vasculaire peut en effet donner naissance à des kystes dont la cavité provient de la lumière du vaisseau.

Nous ferons valoir les arguments suivants en faveur de cette manière de voir :

a) *Forme générale de certains kystes.* — Si l'on étudie la série des coupes, on constate que beaucoup de kystes de grande taille, n'ont pas une forme sphérique ou ovoïde comme pourraient le faire croire les coupes transversales : une reconstitution dans l'espace, de l'ensemble des coupes, nous montre ces cavités sous une forme très allongée, tubuleuse, souvent bifurquées à leurs extrémités, envoyant des diverticules latéraux. Fréquemment, plusieurs de ces kystes sont disposés à la suite les uns des autres, en chapelet, et sont réunis entre eux par des traînées compactes de cellules épithéloïdes. Ces traînées de cellules sont elles-mêmes fréquemment ramifiées.

Ce sont là des dispositions semblables à celles décrites par nous chez la Tortue grecque, par exemple. Nous rappelons que nous y avons trouvé un argument puissant en faveur de l'origine vasculaire des éléments épithéloïdes.

b) *La continuité directe de certains kystes avec des cavités vasculaires et la présence de globules rouges en leur centre.* — Il n'est pas rare en effet de constater la continuité directe de vaisseaux en voie d'atrophie, quoique encore parfaitement reconnaissables, avec des cavités kystiques creusées au sein d'amas épithéloïdes.

D'autre part, très fréquemment, les traînées d'épithéloïdes en rapport avec les cavités kystiques se continuent soit directement avec des réseaux vasculaires, soit avec des cellules connectives périvasculaires.

On sait que des observations fort semblables furent faites jadis chez les mammifères, par Ranvier, puis à nouveau par Renaut (traité prat. d'Histologie).

c) Enfin, argument décisif, *il est possible de suivre chez l'Axolotl toutes les phases de transition unissant le vaisseau*

normal au kyste typique. — Nous rappelons que la structure de la plupart des vaisseaux intrathymiques présente chez l'Axolotl des caractères constants : le vaisseau se compose d'un tube endothélial entouré d'une fine couche conjonctive différenciée par des cellules auxquelles nous avons réservé le nom de cellules adventicielles, puis enfin bordé par des séries de cellules conjonctives jeunes, des cellules périthéliales. Cette disposition se remarque facilement dans les fig. 3 (partie supérieure), les fig. 9, 10 et 11.

Seuls les gros troncs vasculaires présentent une complication plus grande, due à l'adjonction d'une couche musculaire et d'une adventice plus épaisse.

Lorsque un vaisseau intrathymique cesse de fonctionner, on assiste à une série de phénomènes représentée par les fig. 10, 11 et 3.

La figure 10 nous montre le début du phénomène. La partie inférieure du dessin représente une portion de vaisseau sanguin encore à peu près normale. Seule la présence d'érythrocytes dont certains sont en voie de pycnose (hem. +) vient nous démontrer que le cours du sang s'y est arrêté.

Dans la partie supérieure du dessin, nous voyons débuter les phénomènes de réaction de la paroi : les cellules périthéliales ont augmenté considérablement de volume. Les cellules adventicielles en font autant : leur noyau devient vésiculeux et clair, le protoplasme perd sa structure fibrillaire, il se dédifférencie, en accroissant en même temps considérablement ses dimensions.

La fig. 11 nous montre également très bien le début de ces modifications qui vont donner aux cellules périthéliales et adventicielles des anciens vaisseaux, l'aspect typique de cellules épithéloïdes.

Mais tout ne se borne pas à une simple augmentation de volume. Des divisions nucléaires se produisent rapidement, multipliant ainsi le nombre des cellules épithéloïdes qui restent groupées, soit en plages plasmodiales, soit en amas de cellules indépendantes.

Ces divisions se font toujours par amitose, et à ce point de vue le thymus de l'Axolotl, et aussi, nous le savons, le thymus

d'Amphibiens après la greffe (Dustin 1911) constituent un matériel idéal peut-on dire, pour l'étude de la division directe.

On sait que cette division peut se faire suivant deux modalités; dans l'une le noyau se divise en deux par étranglement, dans l'autre, il se scinde en deux suivant un plan, par un véritable phénomène de clivage.

Les deux mécanismes sont abondamment représentés dans nos thymus. La fig. 10 offre en *am* un bel exemple de division par clivage: des granulations chromatiques se disposent en deux plans parallèles traversant le noyau dans le sens de son grand axe, puis la membrane nucléaire s'invagine entre les deux plans de granulations et réalise bientôt la division nucléaire.

La fig. 11 et la fig. 3 en *am* nous montrent l'aspect des noyaux se divisant par étranglement, ou mieux, pourrait-on dire, par lobulation. Les noyaux perdent leurs contours réguliers, deviennent lobés, puis se fragmentent en deux et parfois même en plusieurs noyaux fils.

Souvent ces phénomènes de prolifération périvasculaires peuvent amener l'oblitération complète du tractus vasculaire. Mais d'autres fois la cavité centrale persiste, se distend et donne naissance à la lumière du futur kyste.

Des dispositions telles que celles représentées par la fig. 3, nous expliquent le mécanisme de ces transformations. Disons de suite, pour lever tous les doutes, que la cavité représentée dans la partie inférieure de la fig. 3, se continue directement avec un vaisseau présentant l'aspect reproduit à la fig. 11.

Or, que constatons-nous: tout d'abord en *c. p. pr.*, nous voyons des cellules périthéliales dont les noyaux se sont divisés; en *am* un noyau subit le début des phénomènes d'amitose. D'autre part, les cellules constituant la paroi propre du vaisseau se sont entièrement modifiées: les noyaux sont devenus très grands, clairs, à contenu peu basophile, présentant tous les caractères des cellules épithéloïdes.

Les cytoplasmes se sont considérablement élargis, ils ont conservé une structure nettement fibrillaire, mais ont perdu leur affinité pour les colorants spécifiques du collagène. Dans

la *fig. 3*, et c'est un fait général à ce stade, nous voyons les cellules prendre une teinte gris-verdâtre caractéristique. Mais, fait important, nous trouvons dans les cellules tout un semis de granulations fixant énergiquement le vert du procédé de Prenant ou le bleu du procédé de Mallory.

Ces granulations quittent fréquemment la cellule d'où elles proviennent, et tombent dans la cavité kystique où nous les avons déjà plusieurs fois signalées au cours des pages qui précèdent.

On peut ainsi assister à tous les stades de la dédifférenciation des cellules conjonctives adventicielles et à leur transformation en cellules épithéloïdes périkystiques. Au cours de ces transformations, les cellules éliminent la substance collagène, formée au sein de leur cytoplasme. Nous verrons bientôt des phénomènes analogues se former au niveau des formations kystiques non préformées.

Ce que nous venons de décrire chez l'Axolotl, vient confirmer d'une façon formelle, l'opinion en tous points semblables que nous formulions en ce qui concerne le thymus des Reptiles.

Les fig. 32, 35, 41 et 41*b* de ce travail (*1909*), sont des stades de modifications analogues à celles que nous étudions aujourd'hui.

Chez les Reptiles, la structure vasculaire se trouve compliquée par l'addition fréquente d'une double gaine conjonctive. Les phénomènes évolutifs se passant au niveau de pareils vaisseaux donnent naissance à des images telles que celles que nous figurions à la fig. 32 (1909), qui montrait la formation d'épithéloïdes aux dépens de cellules connectives périvasculaires. Est-il besoin d'insister encore sur tout ce que l'hypothèse d'Hammar, faisant de ces cellules des Reticulumzellen à différenciation fibrillaire, a d'invraisemblable. Que seraient dans ce cas devenues les parois vasculaires ? Les observations nouvelles que nous apportons et particulièrement nos expériences de greffe, dont nous sommes en train de rédiger les résultats détaillés, viennent démontrer de façon désormais indiscutable, l'origine vasculaire des cellules épithéloïdes.

La figure 3 ne nous montre plus trace de l'endothélium vasculaire. C'est là une disposition très générale ; peut être les lésions de l'endothélium sont-elles la cause initiale des modifications vasculaires ? Toujours est-il que les cellules endothéliales se détruisent sur place ou bien se desquament pour devenir la proie des macrophages intrakystiques.

Dans des cas, beaucoup plus rares, on peut voir, tout au début de la régression vasculaire, l'endothélium s'hypertrophier, ses cellules s'arrondir ainsi que leurs noyaux. Une disposition semblable nous est montrée par la fig. 2. Nous voyons un capillaire *cap.*, dans lequel la circulation a cessé ; les cellules endothéliales se sont fortement hypertrophiées ; le tissu conjonctif s'est considérablement développé autour de la lumière vasculaire. Vers la gauche du dessin, une grande cellule conjonctive, encore reliée au tissu périvasculaire, commence à prendre l'aspect caractéristique des cellules épithéloïdes.

Mais toutes les cavités intrathymiques de l'Axolotl ne se creusent pas aux dépens de cavités vasculaires préexistantes. Un très grand nombre de kystes — et particulièrement les kystes unicellulaires ou paucicellulaires — ont un mode de formation tout différent.

Ces kystes s'édifient toujours au centre d'une cellule épithéloïde ou d'un massif de cellules épithéloïdes.

Dans le premier cas, une vacuole apparaît au centre de la cellule puis s'accroît et la distend.

Dans le second cas, ou bien des vacuoles voisines confluent l'une dans l'autre, donnant naissance à une cavité polycyclique, ou bien les cellules se trouvant au centre du massif épithéloïde se détruisent, s'histolysent, laissant un vide autour duquel s'organisent les cellules demeurées vivantes.

Le problème actuel est donc de définir l'origine des cellules épithéloïdes aux dépens desquelles s'édifient les cavités kystiques. Ce problème résolu, nous verrons s'il existe des rapports de similitude entre cette nouvelle variété de kystes et les kystes à point de départ vasculaire.

Rappelons tout d'abord quelques faits d'observation :

1° Les petits kystes se rencontrent en particulière abon-

dance autour des grands kystes d'origine vasculaire ou dans le voisinage des vaisseaux (fig. 1 *Ki, Ki*) (fig. 3 *Ki*) (fig. 14 Ki^1 et Ki^2) (fig. 12 *Ki* et *Ki*).

2° Les petits kystes renferment fréquemment une substance présentant toutes les réactions des collagènes.

Ces faits, indiscutables, nous amènent à supposer que les cellules formatives de ces kystes pourraient être de nature conjonctive et d'origine paravasculaire.

Quels faits pouvons-nous mettre en avant en faveur de cette manière de voir ?

1° Nos recherches sur les greffes thymiques (Dustin, 1911), nous ont montré que lorsqu'un thymus d'Amphibien est transplanté dans des conditions déterminées, les parois de certains vaisseaux donnent naissance à des essaims de cellules épithéloïdes envahissant le thymus.

2° Le thymus normal de nos Axolotls, nous a montré des phénomènes identiques se présentant sous deux modalités.

a) Un vaisseau en voie de régression donne naissance à des cellules épithéloïdes, provenant par dédifférenciation et multiplication amitosique, des cellules adventicielles et multiplication amitosique et épithéloïdisation des cellules périthéliales (Voir fig. 3, 9, 10, 11).

b) Un vaisseau encore perméable donne naissance, en un point de sa paroi, à un bourgeon de cellules épithéloïdes issu des cellules adventicielles et périthéliales. Le fait, que nous représenterons fréquemment dans notre travail *in extemso* sur les greffes, se retrouve chez l'Axolotl normale. La fig. 12 nous en offre un exemple, qui nous montre, en même temps, l'apparition des kystes au sein des cellules néoformées. Cette figure nous montre nettement la prolifération localisée en un point de la paroi vasculaire et nous constatons qu'à mesure que les cellules s'éloignent de leur point d'origine elles, s'accroissent et prennent d'avantage les caractères de cellules épithéloïdes. Quelle signification faut-il reconnaître à ces cellules. Il s'agit à notre sens de cellules connectives déviées de leur évolution normale, qui était de différencier des fibrilles et de fixer de la

matière collagène. Leur transformation épithéloïde paraît arrêter la différenciation fibrillaire, tandis que dans beaucoup de cellules, la formation de la substance collagène se poursuit, mais est suivie de l'élimination de cette substance au sein d'une vacuole.

D'ailleurs, des kystes peuvent se développer aux dépens de cellules conjonctives typiques, non périvasculaires, qui se dédifférencient et éliminent leur collagène. C'est le troisième ordre de faits sur lequel nous insisterons.

3° Des kystes typiques peuvent se différencier aux dépens de cellules connectives intrathymiques.

Les fig. 2^c, 2^b et 2, nous montrent quelques stades de ces transformations.

Un premier point sur lequel il nous paraît à peine besoin d'insister, est que les cellules marqués *c. cj.*, sont bien des cellules conjonctives : leur forme étoilée, leur colorabilité par la méthode de Mallory, leurs connexions avec le tissu conjonctif périvasculaire, ne peuvent laisser aucun doute à ce sujet, à moins d'en faire des " Reticulumzellen „ ayant différencié des fibrilles conjonctives, comme d'après Hammar elles différencieraient des myofibrilles !

La fig. 2^b nous montre le début de la formation d'un kyste au sein d'un groupe de ces cellules. Nous y constatons les modifications suivantes :

a) Les cellules ont considérablement augmenté de volume.

b) Leurs noyaux sont devenus clairs, vésiculeux, à gros nucléoles, caractères des noyaux de cellules épithéloïdes.

c) Leurs cytoplasmes tendent à perdre leur structure fibrillaire et leur grande affinité pour le bleu de Mallory. Au centre du groupe cellulaire, les cytoplasmes paraissent se liquéfier en une série de vacuoles qui confluent de manière à former une cavité polycyclique, entourant une petite cellule thymique en pycnose. La réaction spécifique du collagène se concentre au niveau de la bordure de la cavité, puis dans des granulations irrégulières éliminées à l'intérieur de cette cavité.

Ces différents processus se continuant, nous en arrivons à

l'édification des grands kystes, présentant l'aspect reproduit par la fig. 2.

Ces kystes sont donc formés au détriment de cellules incontestablement conjonctives. Parmi les cellules conjonctives, celles qui paraissent le plus sujettes à ces tranformations, sont encore celles qui avoisinent les vaisseaux (*fig. 2b et 2c*). Ce fait permet donc de rapprocher, les unes des autres, toutes les formations kystiques du thymus de l'Axolotl.

RÉSUMÉ DES FAITS OBSERVÉS ET CONSIDÉRATIONS CRITIQUES.

Chez les larves d'Axolotl de trois à cinq ans, élevées en Europe et qui ont fait l'objet de cette étude, le thymus présente une disposition unilobulaire. Il est entouré d'une fine coque conjonctive, émettant quelques fins tractus pénétrant dans l'organe et quelques travées plus conséquentes, accompagnant les vaisseaux et leur constituant une adventice. De ces travées conjonctives partent des cellules étoilées conjonctives dessinant dans le thymus un réticulum très incomplet. Le parenchyme lui-même parait constitué essentiellement par la juxtaposition des deux variétés d'éléments : d'une part, les petites cellules thymiques, très abondantes ; d'autre part, des éléments d'aspect épithéloïde. Jamais nous n'avons pu mettre en évidence, de façon incontestable, l'existence d'un réticulum formé de cellules étoilées, qui ne fussent pas conjonctives et partant assimilables aux cellules du réticulum fondamental du thymus des Mammifères. Les petites cellules thymiques présentent les caractères habituels de cette variété cellulaire : rareté du cytoplasme, grande abondance de basichromatine dans le noyau.

Par contre, les cellules épithéloïdes ont une allure toute particulière. Rarement elles forment des groupements pouvant rappeler les corps de Hassal. Jamais, jusqu'à présent, nous n'avons trouvé de cellules striées pouvant être assimilées aux cellules myoïdes ou même myo-épithéloïdes ; les cellules épithéloïdes du thymus de l'Axolotl ont une tendance des plus manifeste à la formation de cavités kystiques et particulièrement de cavités à cils vibratils. L'abondance et la variété de ces kystes donnent au thymus de cet urodèle une allure absolument typique, à tel point que l'on peut dire que l'histoire des cellules épithéloïdes est écrite tout entière dans l'évolution et la genèse des cavités intrathymiques.

Ces cavités peuvent se diviser en cavités intracellulaires ou unicellulaires et en cavités pluricellulaires.

La paroi de ces cavités est toujours constituée par de larges cellules épithéloïdes différenciant à leur surface interne (cavités intracellulaires), ou externe (cavités pluricellulaires) des formations variées. Ce peuvent être des cuticules, des bordures en brosse, des cratères ou des plateaux ciliés, pourvus d'une ciliation de complexité variable ; ce sont aussi des sortes d'épaisses croûtelles d'une substance présentant toutes les réactions microchimiques des substances collagènes et pouvant se superposer aux corpuscules basaux des plateaux striés.

Ces kystes intrathymiques peuvent renfermer, soit une substance amorphe qui peut être limpide et non colorable, ou bien présenter toutes les réactions essentielles des substances collagènes, soit des éléments figurés : petites cellules thymiques, cellules épithéloïdes en dégénérescence, érythrocytes ou enfin leucocytes. Ces derniers peuvent activement phagocyter les débris amorphes ou figurés qui encombrent la cavité kystique. Ces leucocytes peuvent, enfin, émigrer et se retrouver alors, facilement reconnaissables aux enclaves caractéristiques qu'ils renferment, au milieu du tissu thymique.

Rien ne permet d'attribuer l'origine des cellules épithéloïdes périkystiques, ni aux petites cellules thymiques, ni aux " Reticulumzellen „, ni à des débris épithéliaux d'origine branchiale. En dernière analyse, ces cellules sont toujours des cellules de la lignée mésodermique et particulièrement de nature conjonctive. Ces cellules peuvent évoluer en tant que cellules périvasculaires — et c'est le cas le plus habituel — ou bien évoluer isolément au sein des éléments thymiques propres. Cette évolution si caractéristique est accompagnée de dédifférenciation cellulaire, et de formations cavitaires. Ces cavités peuvent résulter de plusieurs processus différents.

1° *La cavité est préexistante.* — Dans ce cas, la cavité d'un vaisseau en voie de métaplasie, sert de point de départ à la formation kystique.

2° *La cavité est néoformée.* — Elle peut se creuser :

a) Aux dépens d'une seule cellule	α) isolée β) juxtavasculaire (périthéliale).
b) Aux dépens d'un groupe de cellules.	α) périthéliales et n'ayant pas évolué en cellules conjonctives. β) Conjonctives se dédifférenciant et éliminant leur collagène.

Dans tous les cas, — cellules adventicielles, cellules périthéliales, cellules conjonctives — il s'agit d'éléments de nature conjonctive arrivés à des stades variés de leur évolution. Cette proposition se trouve démontrée :

a) Par l'observation de tous les stades de la transformation des cellules de la paroi vasculaire en cellules épithéloïdes périkystiques.

b) Par l'observation de la prolifération active d'éléments périthéliaux, donnant naissance à des bourgeons cellulaires d'aspect épithéloïde et se creusant de cavités kystiques.

c) Par l'observation d'éléments étoilés, incontestablement conjonctifs, se dédifférenciant, éliminant leur collagène et se transformant en éléments épithéloïdes :

d) La nature indiscutablement conjonctive de tous ces éléments se trouve démontrée :

1. Par les réactions microchimiques caractéristiques (Prenant, Van Gieson, Curtis, Mallory).

2. Par leurs connexions, soit avec des cellules étoilées évidemment conjonctives, vu leurs réactions de coloration, soit avec le tissu conjonctif fibrillaire capsulaire ou périvasculaire.

Ceci dit, reportons-nous au tableau résumant l'origine attribuée aux kystes thymiques, et voyons la place que nous devons y attribuer au thymus de l'Axolotl. Ce qui précède suffit à démontrer que, en ce qui concerne notre matériel, les hypothèses de Hammar ou de Cheval sont absolument insoutenables.

Il en est de même de l'origine branchiale. Cette dernière théorie peut, croyons-nous, se défendre avec beaucoup de raison

en ce qui concerne les kystes ciliés réguliers du thymus ou des parathyroïdes des mammifères ; nous estimons qu'il y a nettement lieu de séparer cette variété de kystes, des kystes épithéloïdes tels que ceux décrits dans le présent travail.

Notre étude actuelle montre que les anciennes opinions de Affanassiew, reprises par Nüssbaum et ses élèves, renferment une grande part de vérité. Le rôle des vaisseaux et des éléments périvasculaires est essentiel. Seule son interprétation était incomplète ou inexacte sur certains points : en ce qui concerne le rôle de l'endothélium et les phénomènes de phagocytose, il est certain que l'importance qui leur avait été accordée est excessive. Nos recherches sur les Reptiles avaient, il y a deux ans, posé le problème à nouveau, et apporté un début de solution. Nos recherches actuelles précisent de façon difinitive le rôle de l'involution vasculaire, des phénomènes métaplasiques s'accomplissant au niveau des cellules périthéliales ou conjonctives.

Ceci admis, il importe de nous demander le pourquoi de ces curieuses modifications. Pourquoi des ciliations apparaissent-elles ? Pourquoi des cellules subissent-elles la transformation en cellules épithéloïdes ? Que deviennent finalement les kystes intrathymiques ? Jouent-ils un rôle physiologique ?

La plupart des auteurs s'accordent à admettre que l'apparition des ciliations est due à l'irritation de la surface de la cellule par la présence de corps étrangers. Cette assertion est particulièrement applicable aux kystes intrathymiques. L'existence de kystes ciliés dont la cavité est vide de tout fragment de substance amorphe ou d'éléments figurés, n'est pas suffisante pour faire rejeter cette hypothèse. Les corps étrangers ayant agi comme agent d'excitation peuvent, en effet, avoir été résorbés ultérieurement. L'exemple des cellules ciliées du thymus montre une fois de plus, combien est exacte l'opinion qui n'accorde aux cellules ciliées aucune spécificité préétablie. De même qu'au niveau de l'œsophage des Amphibiens, des bronches des Mammifères, de l'épithélium cœlomique au moment de la ponte, la ciliation n'est qu'un accident local de l'évolution des cellules épithéliales.

Mais pourquoi des cellules de nature conjonctive subissent-elles, au sein du parenchyme thymique, des modifications aussi inattendues. C'est un des problèmes actuels de la vaste question de la signification fonctionnelle de l'appareil thymique. Les explications et les interprétations doivent n'être que la résultante de l'observation des faits positifs.

Ces derniers sont aujourd'hui, à notre sens, assez évidents, pour être considérés comme définitivement démontrés et justifier l'essai d'une interprétation.

Rien ne nous autorise à rapporter à un acte de sécrétion la formation des cellules épithéloïdes et des kystes comme certains auteurs l'ont fait. Nous ne pouvons que rappeler nos conclusions de 1909 :

" 1° Les cellules hassalliennes ne présentent jamais de
„ phénomènes morphologiques de secrétion (ergastoplasme,
„ grains de sécrétion).

„ 2° Les formes et aspects de ces cellules sont trop diffé-
„ rents pour laisser supposer l'existence d'une fonction sécré-
„ toire spécialisée.

„ 3° Cette fonction n'existe certainement pas chez les cel-
„ lules myoïdes, qui sont cependant équivalentes aux cellules
„ épithéloïdes.

„ Les images microscopiques considérées par certains au-
„ teurs comme dénotant une fonction sécrétoire, ne sont d'après
„ nous que des formes de dégérescence.

„ Et nous ajoutions :

„ Il paraît certain.... qu'il y a un antagonisme entre l'acti-
„ vité des petites cellules et le développement des tractus con-
„ jonctivo-vasculaires. La régression des capillaires et du
„ tissu conjonctif, caractérisée par la formation de cellules
„ myo-épithéloïdes, n'est d'après nous, que l'expression de la
„ défense des petites cellules thymiques contre la sclérose.

„ Nous avons montré dans nos trois types, et dans nos
„ notes concernant l'involution, le balancement qui s'établit
„ entre le tissu endodermique et le tissu mésodermique, celui-
„ ci cherchant sans cesse à envahir celui-là et y arrivant à la
„ longue après avoir subi de nombreuses défaites saisonnières.

A ces considérations d'ailleurs étayées par de nombreuses observations positives, Hammar oppose ces quelques mots :

„ Es soll, wie schon angeführt, ein Kampf zwischen den „ Thymuszellen und den Bindegewebselementen herrschen, „ aus welchem die myoïden Zellen als Degenerationsprodukte „ der letzteren hervorgehen sollen. Es ist mir jedoch der tiefere „ biologische Sinn dieses Kampfes nicht ganz klar geworden.„

Je ne sais, si à l'heure actuelle, il existe beaucoup de phénomènes dont on puisse pénétrer " le sens biologique profond. „ Quant à moi, je ne comprends pas, je l'avoue, pourquoi des cellules myoïdes apparaissent dans le thymus, surtout si ces cellules devaient provenir d'un réticulum d'origine endodermique.

Cependant si personne ne peut nier l'existence de ces cellules striées, qui oserait actuellement définir leur sens réel ?

Il ne suffit pas de ne pas comprendre un fait, pour se croire autorisé à le nier.

D'ailleurs, cet antagonisme entre cellules thymiques et éléments vasculo-conjonctifs — fait indiscutable en lui-même — est-il un fait si inattendu, qu'il échappe à la compréhension ? Nous ne le croyons pas. Le thymus est, très généralement, le siège de périodes successives d'évolution et d'involution, l'une caractérisée par la multiplication intense des petites cellules thymiques, l'autre par la raréfaction de ces mêmes éléments. La phase d'involution est accompagnée d'une prolifération vasculo-conjonctive intense, et d'autant plus intense que l'on se rapproche du centre de l'organe ou des lobules, là où les petites cellules sont plus rares et plus vieilles. Ces mêmes phénomènes se répétant saisonnièrement chez beaucoup d'animaux, le thymus serait, ou bien voué à une augmentation continuelle de volume, ou bien à un encombrement irréparable par les éléments conjonctifs, si à la phase d'activité sclérogène correspondant à une période involutive, ne succédait pas une phase d'activité sclérolytique correspondant à une période évolutive.

De même, dans tous les autres organes, la régression des tissus nobles est accompagnée de prolifération conjonctive. Mais là, cette prolifération, lorsqu'elle se produit, est générale-

ment définitive. Aucun organe n'est d'ailleurs comparable au thymus avec ses poussées cellulaires périodiques et il ne nous semble pas téméraire de supposer que par le fait même des nécessités fonctionnelles, les petites cellules thymiques en voie de prolifération aient acquis une action métaplasiante d'abord, lytique ensuite, sur les cellules conjonctives. Cette hypothèse a l'avantage d'expliquer tous les aspects observés dans nos préparations et de s'en tenir à la stricte interprétation de faits incontestablement observés.

Que deviennent finalement les kystes intrathymiques de l'Axolotl? Ils subissent le sort habituel des éléments épithéloïdes; leur existence est éphémère. Bientôt les cellules bordant le kyste perdent la netteté de leurs contours, le noyau se chromatolyse, puis se fragmente; des macrophages achèvent finalement de déblayer le thymus.

Nous ne croyons pas que l'on puisse attribuer une réelle fonction aux kystes thymiques, pas plus d'ailleurs qu'aux cellules épithéloïdes ou myo-épithéloïdes. Ce sont des formes cellulaires métaplasiques, annonciatrices d'une disparition prochaine. Nos recherches actuelles nous fortifient entièrement dans cette manière de voir déjà défendue par nous en 1909.

	HAMMAR	DUSTIN
Petites cellules thymiques	Lymphocytes vrais. Origine mésodermique.	Origine épithéliale endo- ou ectodermique suivant l'origine des ébauches thymiques
Cellules épithéloïdes (ciliées, myoïdes, kystes, etc.)	Origine ecto- ou endodermique aux dépens du réticulum primitif	Origine mésodermique aux dépens d'éléments conjonctifs intrathymiques (cell. conjonctives, adventicielles, périthéliales, etc.

Nous terminerons la présente étude par quelques considérations d'ensemble sur les problèmes généraux soulevés par la

structure du thymus. A la suite des recherches de Hammar et des notres, l'origine de tous les éléments thymiques s'est trouvée entièrement remise en question. Nos opinions sont à ce sujet radicalement différentes comme le montre le tableau qui précède.

Les résultats essentiels de nos recherches ont été synthétisés dans les conclusions suivantes, que nous empruntons à nos recherches de 1909 :

4° Une seule cellule est propre au thymus : c'est la petite cellule thymique ; toutes les autres sont des cellules importées secondairement. Ce sont :

α) Les cellules conjonctives ;

β) Les cellules myo-épithéloïdes (corps de Hassal) ;

γ) Les cellules granuleuses et les leucocytes ;

δ) L'endothélium vasculaire ;

ε) Les hématies ;

5° Les cellules formant les corps de Hassal, les cellules myoïdes, les cellules épithéloïdes sont des éléments de même souche et de même nature. Entre ces différentes formes, existent toutes les formes de transition.

6° Ces cellules ne dérivent pas du réseau thymique et ne sont par conséquent pas d'origine endodermique ; elles dérivent de cellules de nature conjonctive et sont par conséquent mésodermiques.

Ainsi en témoignent :

α) Leur forme et leur structure ;

β) L'observation directe de leur origine et de leur transformation ;

γ) En certains cas, leurs réactions colorantes ;

δ) Les rapports existant entre ces cellules et des cellules indubitablement conjonctives ;

ε) L'observation de leur pénétration dans le thymus.

7° Les cellules conjonctives donnant naissance aux cellules myo-épithéloïdes peuvent être périvasculaires ou intersticielles. Dans le premier cas se constituent souvent des groupements en " corps de Hassal „ ; dans le second cas, se forment des cellules myo-épithéloïdes isolées ou disposées en petits groupes.

8° La théorie de Nüsbaum, développement de celle d'Affanassiew, est donc partiellement exacte. L'involution vasculaire joue un certain rôle dans la formation des corps de Hassal.

Ainsi en témoignent :

α) La disposition des cellules myo-épithéloïdes en traînées ramifiées rappelant la silhouette des anciens capillaires ;

β) La continuation du corps de Hassal avec des capillaires en voie d'atrophie ;

γ) La présence d'hématies dégénérées au centre de certains corps de Hassal.

Mais, dans ce cas, le rôle prépondérant est dévolu aux cellules conjonctives périvasculaires et non à l'endothélium ou aux leucocytes.

9° Les cellules myo-épithéloïdes sont vouées à la dégénérescence. Cette dégénérescence devient de moins en moins rapide à mesure que l'animal avance en âge.

10° Les cellules myo-épithéloïdes peuvent affecter les formes, les structures et les groupements les plus variés.

11° Les cellules myo-épithéloïdes peuvent contribuer à former la paroi de petits kystes souvent ciliés.

Ces kystes peuvent être { intracellulaires (monocellulaires). / extracellulaires (pluricellulaires).

Quelques temps après, parut la grande revue générale de Hammar : (*Fünzig Jahre Thymus forschung*, 1910).

Le distingué histologiste d'Upsala reprit et discuta certaines de nos conclusions. Nous croyons le moment venu d'entamer la discussion à nouveau, sur la base des recherches que nous avons poursuivies depuis.

Un point paraît être définitivement tranché et admis aussi complètement par Hammar que par nous-même : c'est l'identité d'origine et de signification morphologique des cellules épithéloïdes, striées, kystiques, ciliées, muqueuses, des bandes épithéliales, des cellules hassalliennes. Toutes ces formations sont équivalentes et rentrent dans le grand groupe que nous avons dénommé *groupe myo-épithéloïde.*

" Es scheint mir demnach „ dit Hammar, loc. cit., page 129

„ — als lassen sich die mehr — und die einzelligen Hassal-
„ schen Körpern, die myoïden Zellen und die irregulären
„ Epithelzellenhaufen, unter einem gemeinsamen Gesichts-
„ punkt zusammen fassen. Es kommen fast alle möglichen
„ Übergange zwischen moyïden Zellen und einzelligen Hassal-
„ schen Körpern, zwischen diesen und mehrzelligen Körpern,
„ zwischen mehrzelligen Körpern und den irregulären epithe-
„ lialen Verbänden vor... „.

C'est là un point sur lequel l'entente est importante, car elle précise et généralise à la fois, la question des éléments myo-épithéloïdes.

Depuis 1909 nous ne savons pas qu'aucune observation nouvelle et indiscutable soit venue ébranler nos conclusions concernant les Reptiles ; nous avons déjà au cours de ce travail rencontré plusieurs des objections de Hammar.

D'autre part, aucune des objections que nous avons élevées contre l'origine réticulaire des cellules myo-épithéloïdes n'a été victorieusement attaquée.

Il ne suffit pas, en effet, de croire comme le fait Hammar, que nous avons pris des cellules réticulaires pour des cellules conjonctives (p. 126), ou de qualifier de mascarade (p. 221), les transformations cellulaires, que nous avions décrites pour qu'une théorie différente de la nôtre s'impose aux morphologistes.

" Nach dem vorstellungen Dustin, dit " Hammar „ hat die
„ Thymus Histogenese geradezu den charakter einer Maske-
„ rade : die Epithelien verkleiden sich zu Lymphocyten, die
„ Bindegewebszellen zu Epithelien und myoïden Zellen. „

Cette apparente bizarrerie ne mérite pas, à notre sens, que nous nous y arrêtions un instant. Nous serions même disposés à reprendre pour notre propre compte le terme de " théorie de la mascarade „ qui rend extrêmement bien compte des faits que l'on peut observer dans le thymus et mettra en garde les histologistes trop confiants qui décident de l'origine d'une cellule à son aspect extérieur.

Une pareille mascarade est-elle d'ailleurs si spéciale au

thymus ? Qui n'a vu des leucocytes donner naissance à des éléments épithéloïdes ou à des cellules géantes ? Qui n'a vu des transformations analogues dans des sarcomes épithéloïdes ? Et ne serait-ce pas une bien plus extraordinaire mascarade que de voir, si l'on adoptait les vues de Hammar, une cellule primitivement épithéliale, devenir une cellule réticulaire étoilée et finir par revêtir l'aspect d'une fibre musculaire striée ?

Bref, si nous laissons de côté la question de l'origine des petites cellules thymiques, question que nous espérons reprendre dans de prochains travaux, pour concentrer notre attention sur les cellules myo-épithéloïdes, nous devons reconnaître que depuis nos recherches sur les Reptiles la question s'est considérablement précisée.

A l'origine réticulaire et, en général, à l'origine branchiale des cellules myo-épithéloïdes, nous avons opposé des objections multiples que nous avons déjà partiellement rappelées dans les pages qui précèdent. Non seulement ces objections restent entièrement debout à l'heure qu'il est, mais les recherches que nous avons entreprises depuis, établissent, à l'évidence, l'origine des cellules épithéloïdes ou de leurs dérivés.

L'examen du thymus de l'Axolotl à l'état statique, fournit des images d'une incontestable netteté. Nous n'avons cependant pas voulu nous en tenir à la simple observation de faits, qui malgré leur évidence, peuvent toujours prêter à plusieurs interprétations. Nous avons employé la méthode expérimentale. Partant des conceptions que nous nous étions faites à la suite de l'étude du thymus des Reptiles, nous avons par la greffe, réalisé la formation expérimentale de cellules épithéloïdes.

Deux communications préliminaires ont déjà fait connaître les résultats fondamentaux de ces greffes. Le travail in extenso, en préparation, démontrera, espérons-nous, qu'il est temps d'abandonner définitivement l'hypothèse qui fait dériver les cellules épithéloïdes, les cellules striées ou les cellules hassalliennes d'un réticulum primitif, qui lui-même est souvent difficilement démontrable.

En terminant, nous ne pouvons que répéter ce que nous

disions au début de ce travail : ce serait arrêter le progrès de nos connaissances concernant le thymus, que de s'endormir sur cette notion simpliste, que le thymus n'est qu'un organe lymphoïde, dont l'ancienne ossature épithéliale peut subir périodiquement d'inexplicables revivescences, accompagnées d'inexplicables métaplasies. A nos yeux la seule fonction indiscutable du thymus réside dans l'élaboration périodique d'un nombre souvent immense de petites cellules riches en basichromatine. Ce sera le but des recherches ultérieures de nous apporter la raison d'être de ce fait. Actuellement Hammar et nous continuons à défendre des idées radicalement opposées.

Félicitons nous de cet état de choses, éminemment propre à préciser et à faire progresser nos connaissances relatives à ce mystérieux appareil thymique !

EXPLICATION DES PLANCHES.

ABREVIATIONS EMPLOYÉES.

am. = amitose.
c. cj. = cellule conjonctive.
c. e. = cellule endothéliale.
c. ép. = cellule épithéloïde.
c. p. = cellule périthéliale.
c. p. pr. = » » en voie de prolifération.
c. v. = cils vibratils.
c. v. t. = » en coupe transversale.
hem. = globules rouges.
k. = kystes intrathymiques.
k. i. c. = kyste intracellulaire.
p. c. t. = petite cellule thymique.

Tous les dessins proviennent de thymus de larves d'Axolotl mâles de 4 ans environ, sacrifiées en Octobre. Les pièces ont été fixées par le liquide de Bouin alcoolisé et colorées par la triple coloration de Prenant ou le procédé de Mallory. Chambre claire de Zeiss-Abbe.

Planche XXIV.

Fig. 1. — Méthode de Prenant. Obj. 2 mm. Apochr. Leitz. Oc. comp. 4. Aspect de 2 kystes intrathymiques. Celui que l'on peut observer en haut et à droite de la figure est un kyste intracellulaire, creusé au sein d'une grande cellule épithéloïde. Ce kyste est bordé et rempli par une substance présentant les réactions microchimiques de la substance collagène.

Le kyste de gauche plus volumineux est formé aux dépens de plusieurs cellules épithéloïdes ; il est bordé par des

sortes de croutelles collagènes, présente un cratère cilié et un fragment de bordure ciliée avec corpuscules basaux, et renferme plusieurs globules blancs paraissant bourrés de granules fixant le vert lumière du « Prenant » ou le bleu de « Mallory ».

Fig. 2. — Méthode de Mallory. Obj. 8a de Reichert. Oc. 2. La préparation montre deux kystes intrathymiques à deux stades de leur formation. Les cellules épithéloïdes qui bordent ces kystes ne fixent plus que faiblement la coloration spécifique : celle-ci se concentre au niveau d'une sorte de cuticule ou de croutelle limitant les kystes, et au niveau d'une substance éliminée au centre des kystes.

Fig. 3. — Vaisseaux intrathymiques en voie de transformation épithéloïde et kystique. Dans le haut de la fig. se voient un vaisseau normal, ses éléments endothéliaux (*c. e.*), les érythrocytes qu'il renferme (*hem*), ses cellules périthéliales différenciant une fine gaine collagène, vivement colorée par le Lichtgrün.

Dans le bas un kyste est en voie de formation aux dépens d'un vaisseau que l'on peut suivre sur les coupes suivantes. La substance collagène paraît être éliminée au centre du kyste, sous forme de grumeaux ou de granulations. Les cellules endothéliales ont disparu. Les cellules périthéliales ont considérablement augmenté de volume ; elles revêtent l'aspect typique d'éléments épithéloïdes ; leurs noyaux présentent des phénomènes d'amitose (*am.*). A gauche du dessin, s'aperçoit un petit kyste à contenu collagène.

Fig. 4. — Une grande cellule épithéloïde avec kyste intracellulaire. Remarquer les différenciations de la paroi du kyste : à gauche, bordure ciliée typique, légèrement déprimée en cratère. Corpuscules basaux. Ailleurs croutelles collagènes formant cuticule. Au centre, globule de substance collagène. (Méthode de Prenant).

Fig. 5 — Cellule épithéloïde atypique bordant un grand kyste pluricellulaire. La substance collagène s'est localisée dans une vacuole située entre le noyau et une fort belle bordure ciliée (m. méthode).

FIG. 6. — Cellule épithéloïde non ciliée bordant un grand kyste pluricellulaire. La cellule est bordée par une croutelle collagène au sein de laquelle s'observe une petite vacuole claire renfermant un centriole (m. méthode).

FIG. 7. — Un grand macrophage intrathymique. Remarquer les enclaves les unes d'origine nucléaire (en noir), les autres de nature collagène (en vert).

PLANCHE XXV.

FIG. 8. — Vue d'ensemble du thymus de l'Axolotl, montrant la disposition et la répartition des kystes intrathymiques.

FIG. 9. — Portion de capillaire thymique. Méthode de Prenant. Obj. 2 mm. Apochrom. Zeiss. Oc. 2. La fig. montre les cellules périthéliales minces et allongées, telles qu'elles s'observent autour des capillaires bien perméables. En (*am.*) phénomènes d'amitose.

FIG. 10. — Portion de capillaire thymique en voie d'oblitération et de transformation en traînée épithéloïde. Dans sa partie inférieure, le dessin montre le capillaire, encore perméable, renfermant des érythrocytes et entouré d'éléments périthéliaux (*c. p.*). En (*am.*) débutent les phénomènes d'amitose et d'hypertrophie des cellules formant la paroi du capillaire. Plus haut la lumière du capillaire a disparu, on n'observe plus qu'une traînée d'éléments épithéloïdes parmi lesquels certains commencent à donner naissance à de petits kystes intracellulaires (*k. i.*).

FIG. 11. — Obj. 8a de Reichert. Oc. 2. Vaisseau thymique montrant le début de la prolifération des éléments conjonctifs périendothéliaux. Les cellules se divisent par amitose (*am.*) ; le noyau et le cytoplasme augmentent de volume.

FIG. 12. — Obj. 2 mm. Apochr. Zeiss. Oc. comp. 4. Capillaire thymique donnant naissance en un point limité de sa paroi à un volumineux bourgeon épithéloïde. On constate qu'à mesure que les cellules s'écartent de leur point d'origine, elles deviennent plus volumineuses. Dans cet amas épithéloïde se sont creusés deux kystes intracellulaires à contenu collagène. Au niveau des + + proliférations épithéloïdes très localisées.

Fig. 13 et 14 — Deux coupes successives à travers la paroi d'une grande cavité kystique intrathymique.

a) Fig. 13. — Obj. 2 mm. Apoch. Zeiss. Oc. comp. 8. Cette coupe atteint tout à fait tangentiellement la paroi du kyste. Elle montre les grandes cellules épithéloïdes, de forme polyédriques, s'accolant les unes aux autres de façon à former un revêtement continu. Au niveau de la croix (+) on aperçoit les racines ciliaires coupées transversalement. La même cellule paraît être reliée à ses voisines par de délicates anastomoses intercellulaires.

b) Fig. 14. — Obj. 2 mm. apoch. Zeiss. Oc. 2. Cette coupe atteint la cavité du kyste limité, comme on peut le voir, par les grandes cellules épithéloïdes. Au niveau du signe + on aperçoit la partie la plus superficielle des grandes cellules représentées par la fig. 13, avec la coupe des racines ciliaires et quelques corpuscules basaux (plus foncés). Plus bas, diverses touffes de cils coupées transversalement et montrant l'implantation irrégulière des cils. Outre la grande cavité centrale on aperçoit plusieurs kystes plus petits, intracellulaires. En haut, en K. i. 1, kyste intracellulaire, renfermant des débris à réaction du collagène, et formant au voisinage du noyau un cratère à ciliation tourbillonnée. En K. i. 2, deux petits kystes à ciliation touffue.

Fig. 15 à 21. — Obj. 2 mm. Apochr. Zeiss. Cette série de figures montre les détails de la ciliation et les différents aspects de cette ciliation.

a) Fig. 15. — Ciliation typique : plateau superficiel, cils réguliers et égaux, une rangée de corpuscules basaux, racines ciliaires.

b) Fig. 16. — Id. Mais avec intertrication des extrémités libres des cils.

c) Fig. 17. — Ciliation en voie de formation. Corpuscules basaux sans cils ; cils allongés en fouet ; à droite cil avec diplosome. Dans le cas représenté par cette figure, les corpuscules basaux sont situés au milieu de la croutelle à réactions du collagène (comparer : fig. 6).

Fig. 18. — Cils très allongés présentant sur leur trajet de petits corpuscules absolument semblables aux corpuscules basaux.

FIG. 19. — Kyste présentant un triple cratère cilié.

FIG. 20. — Trois kystes contigus. Celui du centre ne présente aucune ciliation ; celui de droite présente des corpuscules basaux, mais pas de cils ; celui de gauche, présente une ciliation en tourbillon avec corpuscules basaux, se dédoublant même vers la gauche du dessin.

FIG. 21. Kyste ayant différencié une bordure en brosse, en un point de sa paroi.

BIBLIOGRAPHIE.

BEDNAR. Die Krankheiten der neugeborenen und Saüglinge. *Wien*, 1852.

BELL. The development of the thymus. *Am. J. of Anat.*, Vol. V, 1906.

CAPOBIANCO. Contribuzioni alla morfologia di timo. *Arch. ital. biolog.*, t. XVII, 1891.

CHEVAL. Recherches sur les lymphocytes du thymus. *Bibl. anat.*, t. XVII, 1908.

CHIARI. Ueber Cystenbildung in der menschlichen Thymus, *Zeit. f. Heilk.*, t. XV, 1894.

DUSTIN. L'origine et la signification des cellules myoïdes et épithéloïdes du thymus. *Bull. Soc. roy. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 1908.

id. Contribution à l'étude du Thymus des Reptiles *C. R. Assoc. d. Anatom.*, Nancy, 1909.

Id. Contribution à l'étude du thymus des Reptiles. Cellules épithéloïdes. Cellules myoïdes et corps de Hassal. *Arch. de. Zool. exp et gén*, 5e série, t. II, 1909.

Id. Les greffes thymiques. *C. R. Assoc. des Anatom.* 13e réunion, Paris, 1911.

Id. La potentialité des éléments thymiques étudiée par la méthode des greffes. *Bull. Soc. roy. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 1911.

EBNER, V. Kölliker's Handbüch, *Leipzig*, 1902.

ERHARDT. Die Henneguy-Lenhosseksche Theorie. *Ergeb. Anat. und Entwicklungsg.*, 1911.

HAMMAR. Zur Histogenese und Involution der Thymusdrüse, *Anat. Anz.*, Bd. XXVII, 1905.

Id. Zur Kenntniss der Teleostierthymus. *Arch. f. m. Anat.*, Bd. LXXIII.

Id. Fünfzig Jahre Thymusforschung. Kritische Uebersicht der normalen Morphologie. *Ergeb. der Anat. u. Entwicklungsgeschichte*, Bd. XIX, 1909.

HENNEGUY. Voir article de Erhardt.

KOHN. Studien über die Schilddrüse. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XLIV, 1895.

KURSTEINER. Epithelkörperchen und Thymustrang beim. Menschen *Corr. Bl. f. Schweizer Arzte*, 1900.

LENHOSSEK. Voir article de Erhardt.

MAURER. Schilddrüse und Thymus der Teleostier. *Morph. Jahr.*, Bd. XI, 1886.

Id. Schilddrüse, Thymus und Kiemenreste der Amphibien. *Morph. Jahr.*, Bd. XIII, 1888.

MAYER. Zur Lehre von der Schilddrüse und Thymus bei den Amphibien. *An. Anz.*, Bd. III. 1888.

NICOLAS. Recherches sur les vésicules à épithélium cilié annexées aux dérivés branchiaux. *Bibliogr. anat.*, 1896.

NUSSBAUM et MACHOWSKY. *An. Anz.*, Bd. XXI, 1902.

PRENANT et SAINT-REMY. Sur l'évolution des formations branchiales chez le Lézard et l'Orvet *C. R. Acad. Sciences*, t. CXXXV-I, 1902.

Id. Recherches sur le développement des dérivés branchiaux chez les Sauriens et les Ophidiens. *Arch. de Biol*, t. XX, 1903.

REMAK. Ueber die Entwickelüng des Hühnchens. *Müllers Archiv.*, 1843.

Id. Entwickelungsgeschichte der Wirbeltiere, *Berlin*, 1855.

RENAUT. Traité d'Histologie pratique, t. II, 1897.

RITCHIE. The specificity and potency of adrenolytic and thymolytic sero. *J. of path. and bacteriology*, t. XII, 1908.

SCHAFFER. Das thyreo-thymische System des Maulwurfes und der Spitzmaüs. Morphologie und Histologie. *Sitz.-ber. Wiener Akad. Math. natur-Klasse*, Bd. CXVII.

SCHAMBACHER. Ueber die Persistenz von Drüsencanälen in der Thymus und ihre Beziehung zur Enstehung der Hassalschen Körperchen. *Virchow's Arch*, Bd. CLXXII.

SIMMOND. Die Thymus bei congenitales Syphilis *Virch. Arch.*, 1908.

STOHR Ueber die Natur der Thymuselemente. *Anat. Hefte*, Bd. XXXI, 1906.

SULTAN. Beitrag zur Involution der Thymusdrüse. *Virchow's Arch.*, Bd. CXLIV, 1896.

TAROZZI. 1) *Arch. p. l. R. Scien. med. Torino*, Vol. XXX, 1906.

2) *Atti di R. Acad. di fisiocritici Sienne* 4e série, Vol XVIII, 1906.

TOURNEUX et VERDUN. Sur les premiers développements et sur la détermination des glandules thyroïdiennes et thymiques chez l'homme. *C. R. Soc. biologie*, t. IV, série 10, 1897.

Id. Sur les premiers développements de la thyroïde, du thymus et des glandules thyroïdiennes. *J. Anat. et phys.*, année 33, 1897.

VERDUN. Sur les glandules satellites de la thyroïde du chat et les kystes qui en dérivent. *C. R. Soc. biologie, Paris*, 1896.

Id. Contributions à l'étude des dérivés branchiaux chez les vertébrés supérieurs. *Thèse Toulouse*, 1898.

VER EECKE. Structure et modifications fonctionnelles du thymus de la grenouille, *Bull. Ac. R méd. de. Belgique*, 1899.

VERSARI. Permanenza del tubo timico in individuo etc. *Arch. d. Soc. Lancis*, V. XVII, 1897.

WATNEY. The minute anatomy of the thymus. *Phil. transact. of the Roy. Soc.*, 1882.

WEYMEERSCH. Contribution à l'étude des fonctions du thymus. Note préliminaire, *Bull. Soc. roy. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, n° 2, 1908.

Id. Lésions du thymus obtenues à la suite d'injections d'un sérum thymo-toxique. *Ibid.*, n° 10, 1908.

Fig. 1

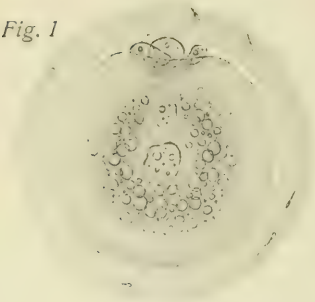


Fig. 2

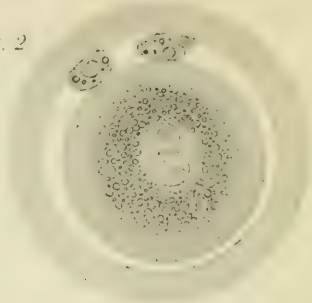


Fig. 3

Fig. 6

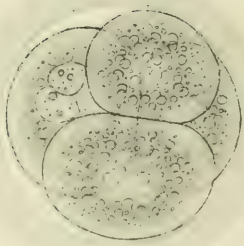


Fig. 7

Fig. 8

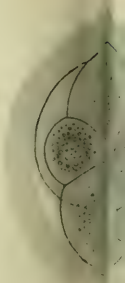


Fig. 11

Fig. 12

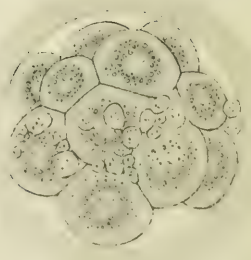


Fig. 13

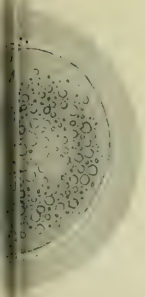


Fig. 4

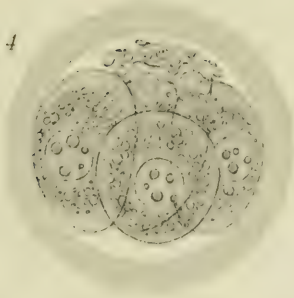
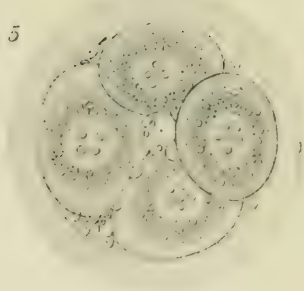


Fig. 5



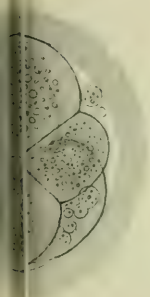
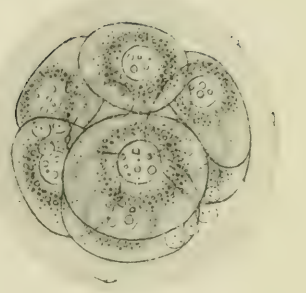


Fig. 9

Fig. 10



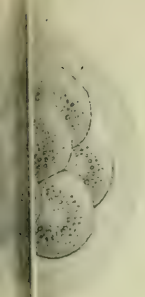


Fig. 14

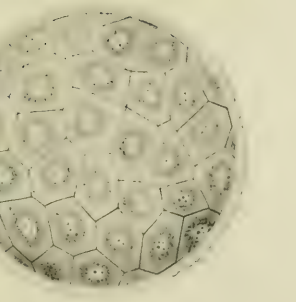


Fig. 15

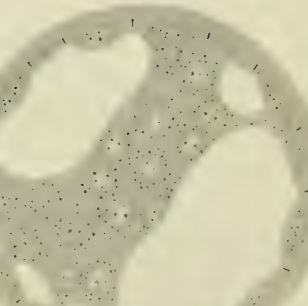


Fig. 16

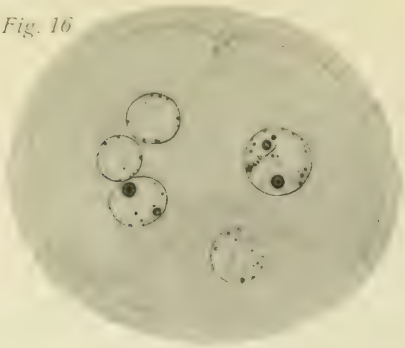


Fig. 17

Fig. 18

Fig. 21

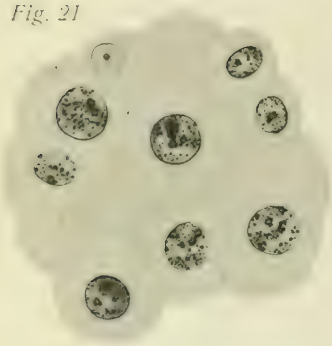


Fig. 22

Fig. 23

Fig. 26

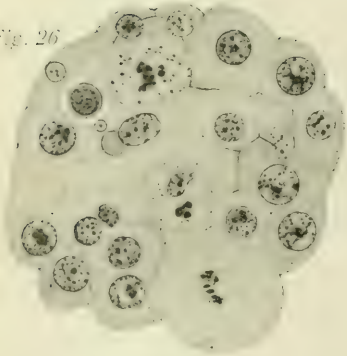


Fig 27

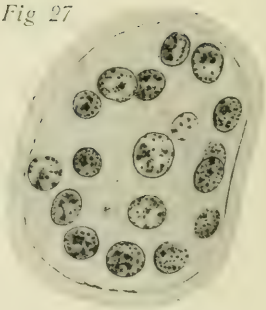


Fig. 28

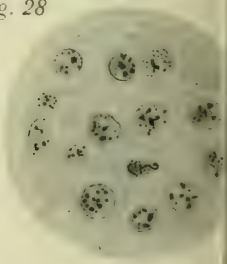


Fig. 32

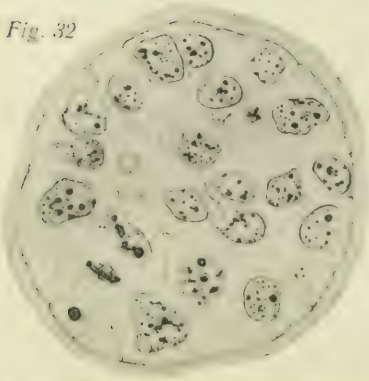


Fig. 33

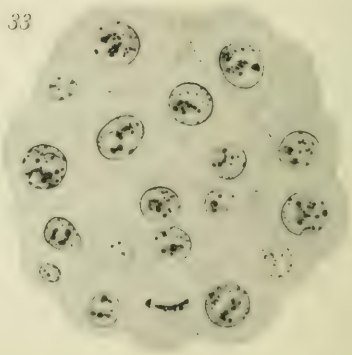
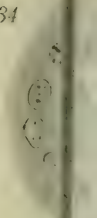


Fig. 34



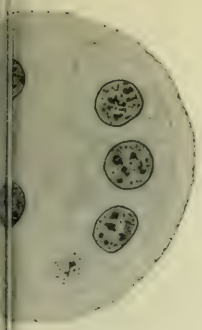
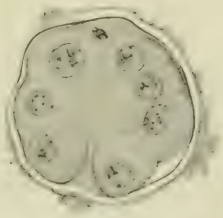


Fig. 19

Fig. 20



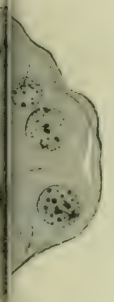


Fig. 24

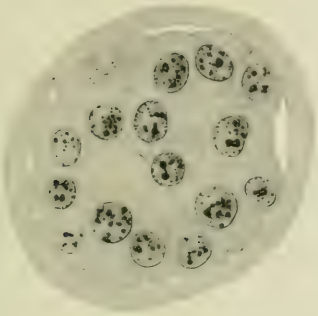


Fig. 25

Fig. 29

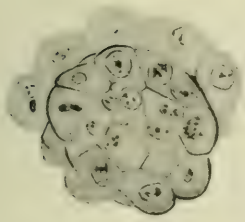


Fig. 30

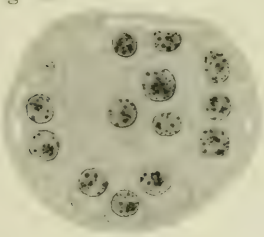
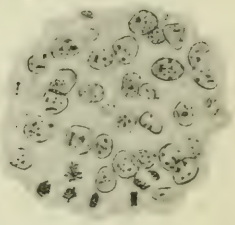


Fig. 31



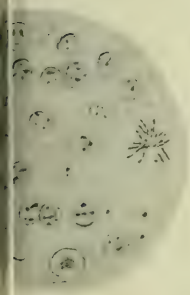


Fig. 35

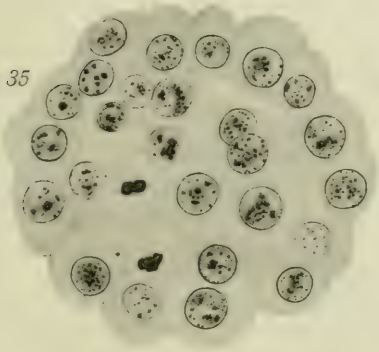
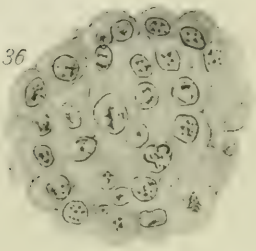


Fig. 36



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

Fig. 37

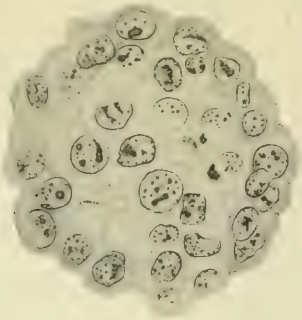


Fig. 38

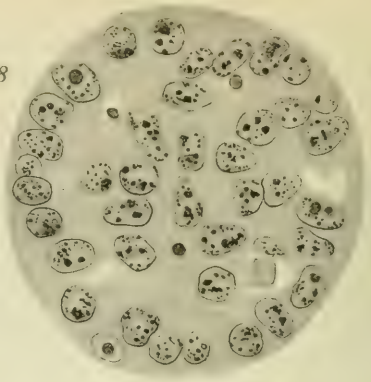


Fig. 39

Fig. 42

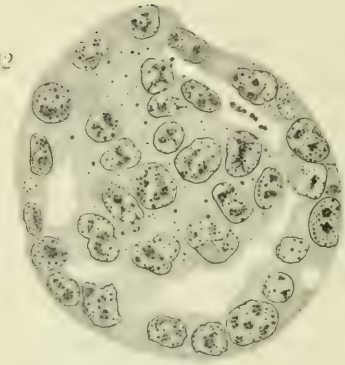


Fig. 43

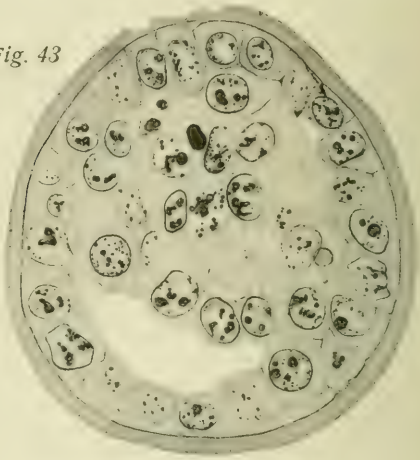


Fig. 46

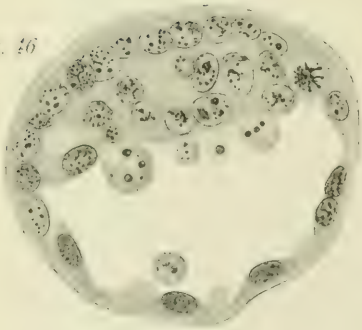


Fig. 47

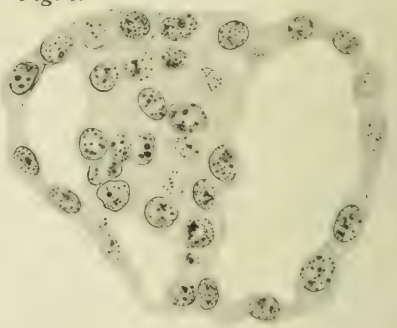
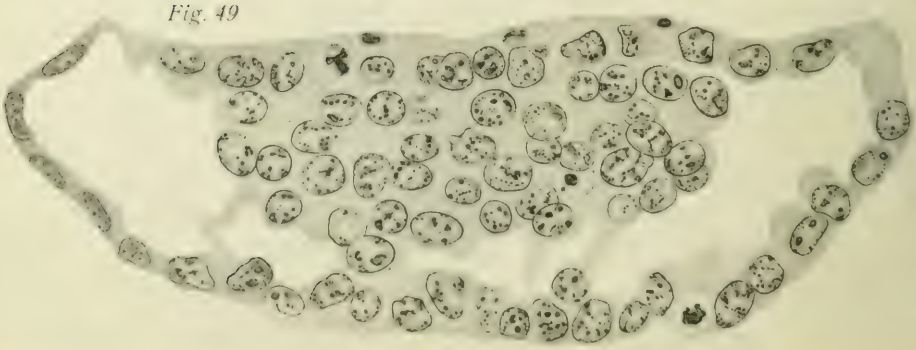


Fig. 49



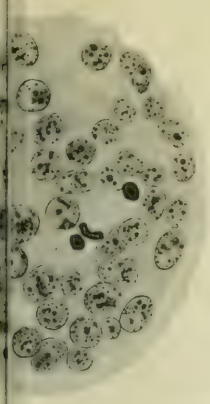


Fig. 40

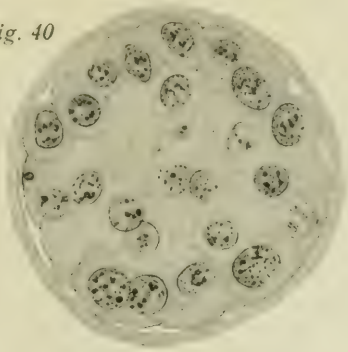


Fig. 41

44

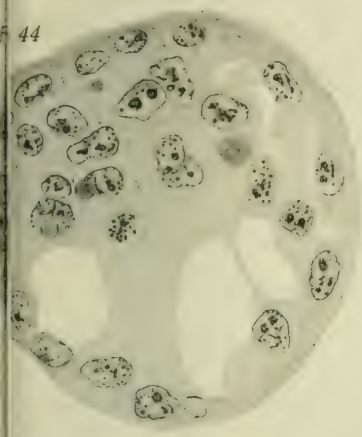


Fig. 45

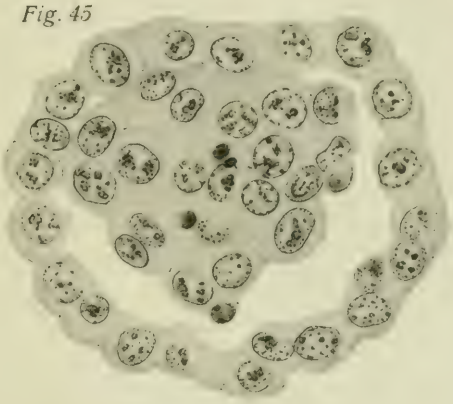


Fig. 48

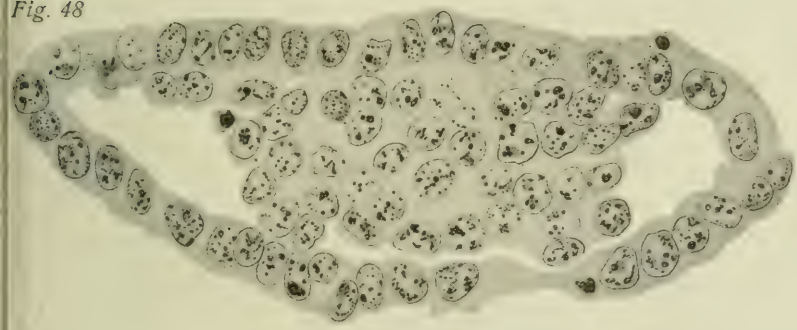


Fig. 50

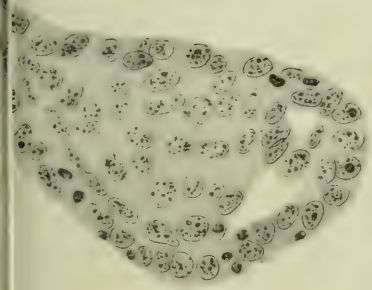
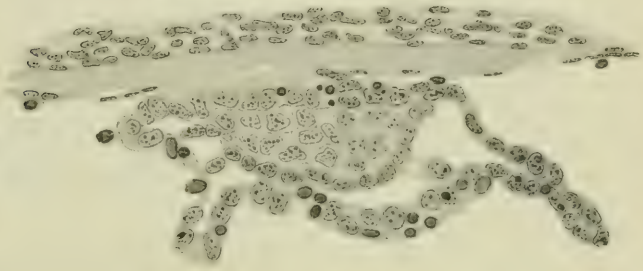


Fig. 51



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

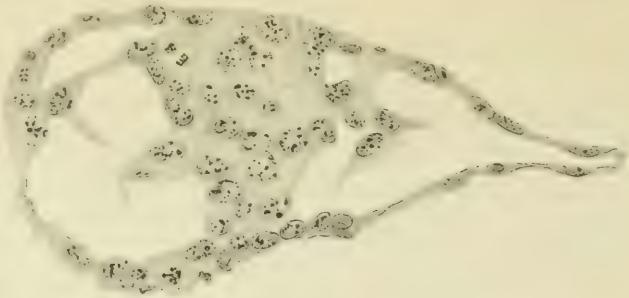


Fig. 52

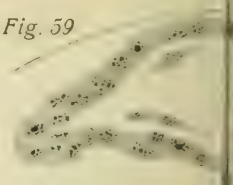


Fig. 59

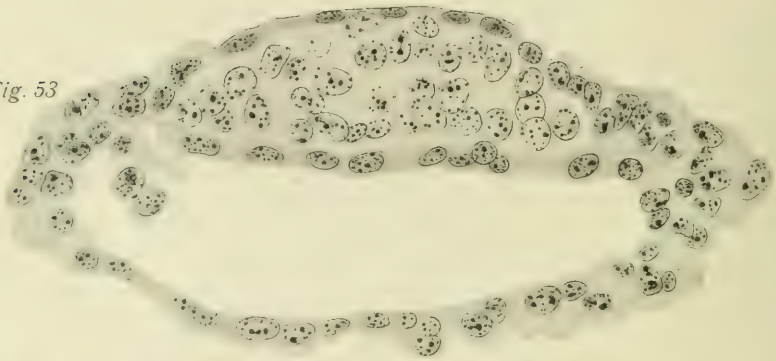


Fig. 53

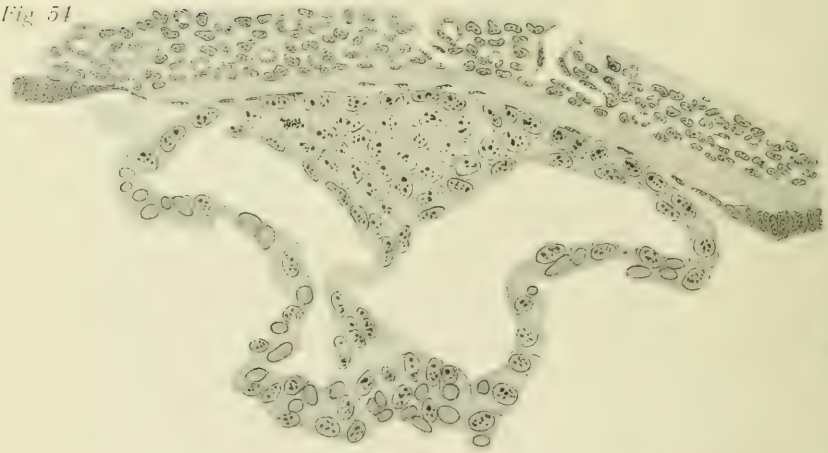
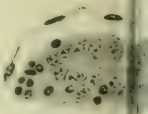


Fig. 54



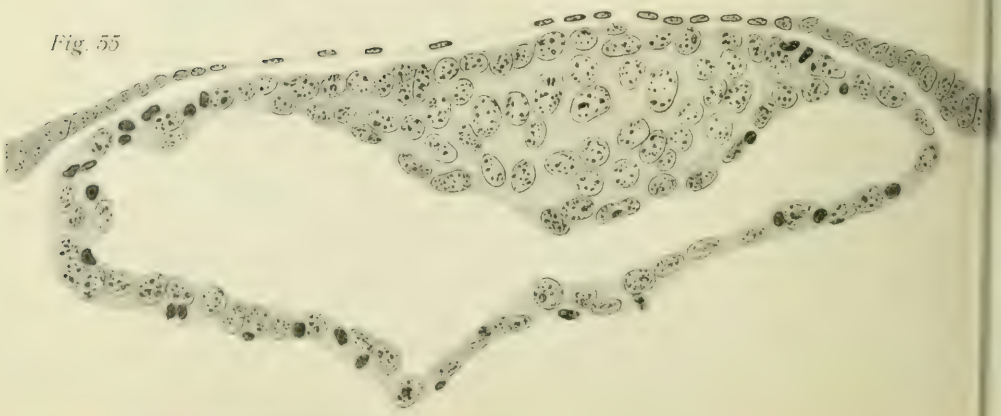
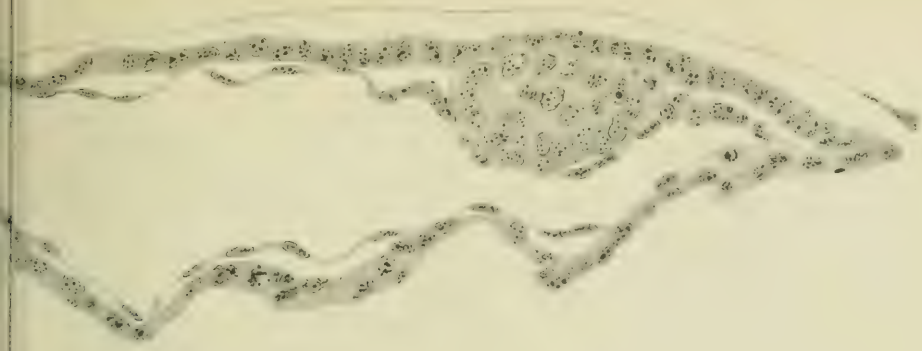
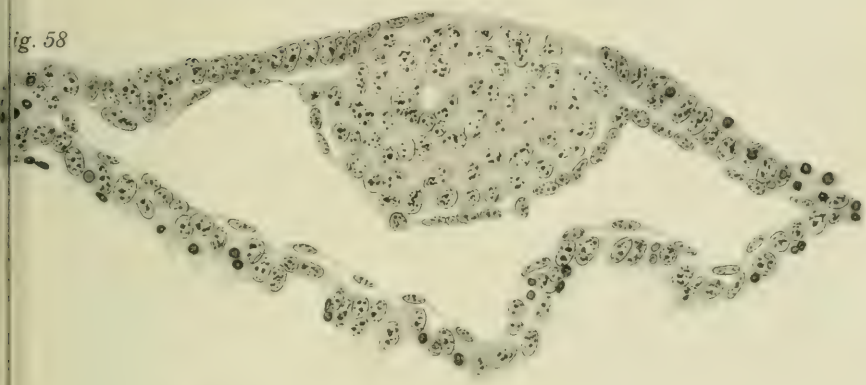


Fig. 55



ig. 58



g. 57

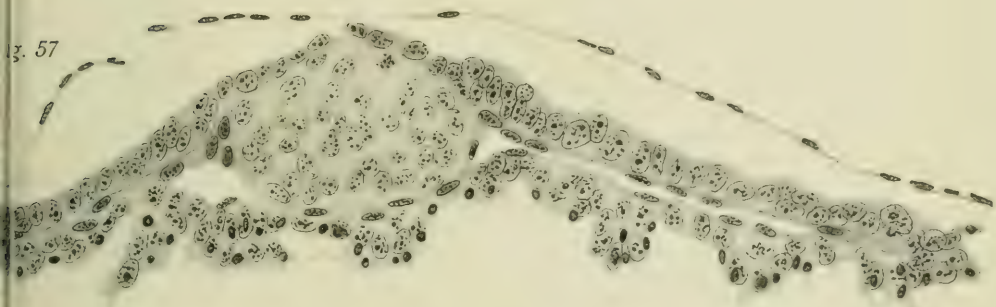
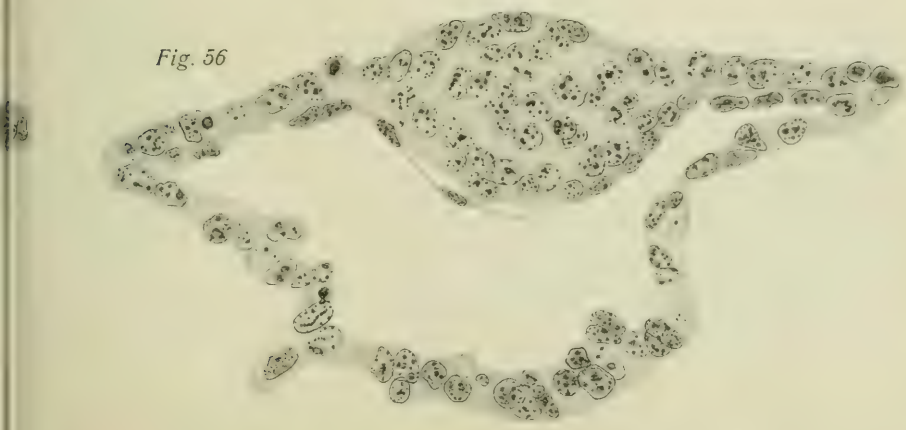


Fig. 56



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles

Fig. 60

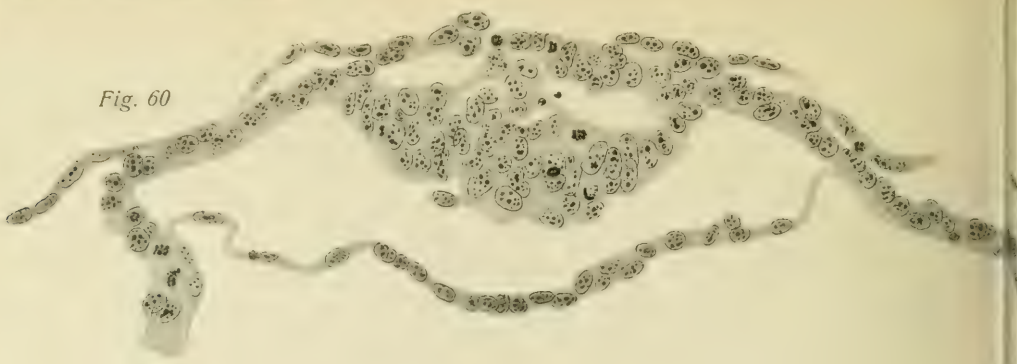


Fig. 62

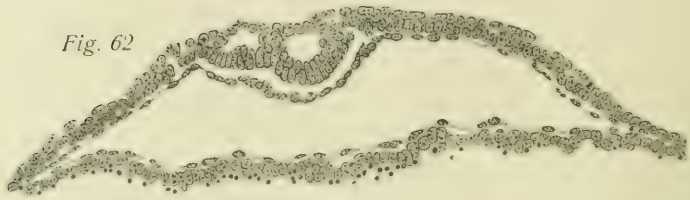


Fig. 64

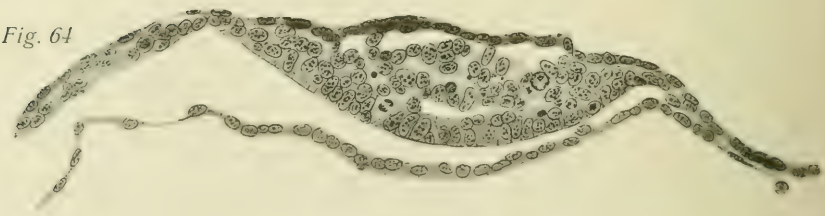


Fig. 65

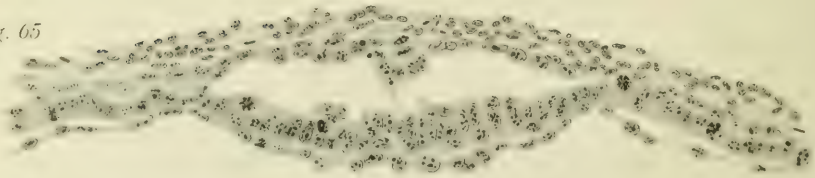


Fig. 67

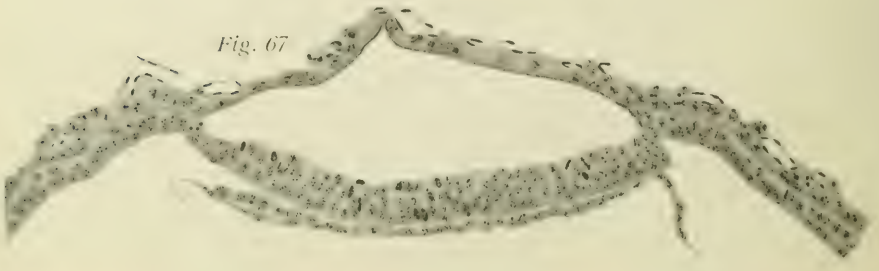


Fig. 61

Fig. 63

Fig. 66

Fig. 68

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

1

8

3

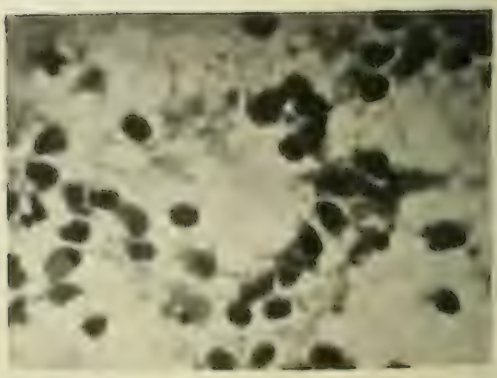
7

6

11

10

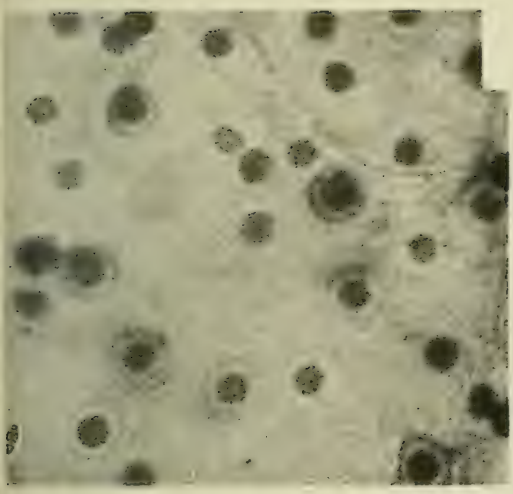
2



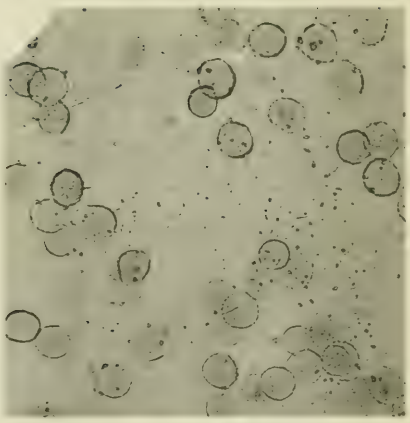
5

9

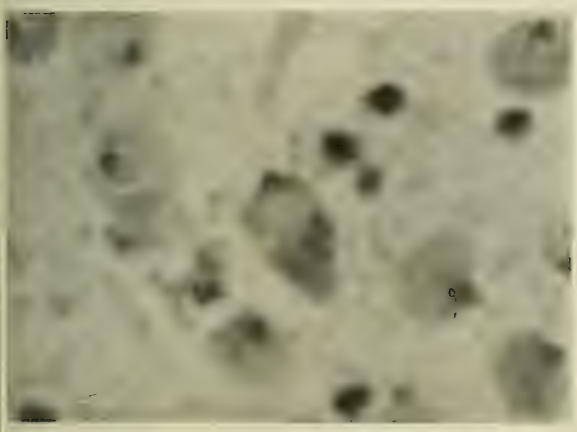
12



14



15



13

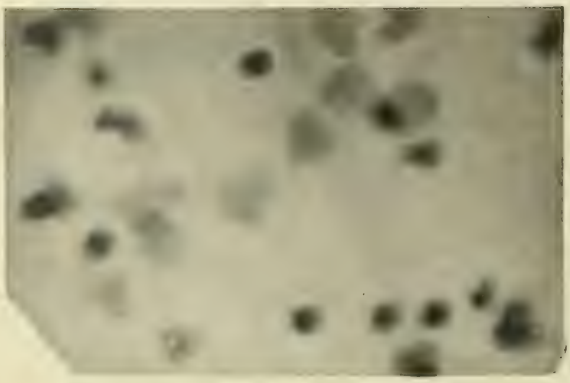
4

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

17

16

19



20

22

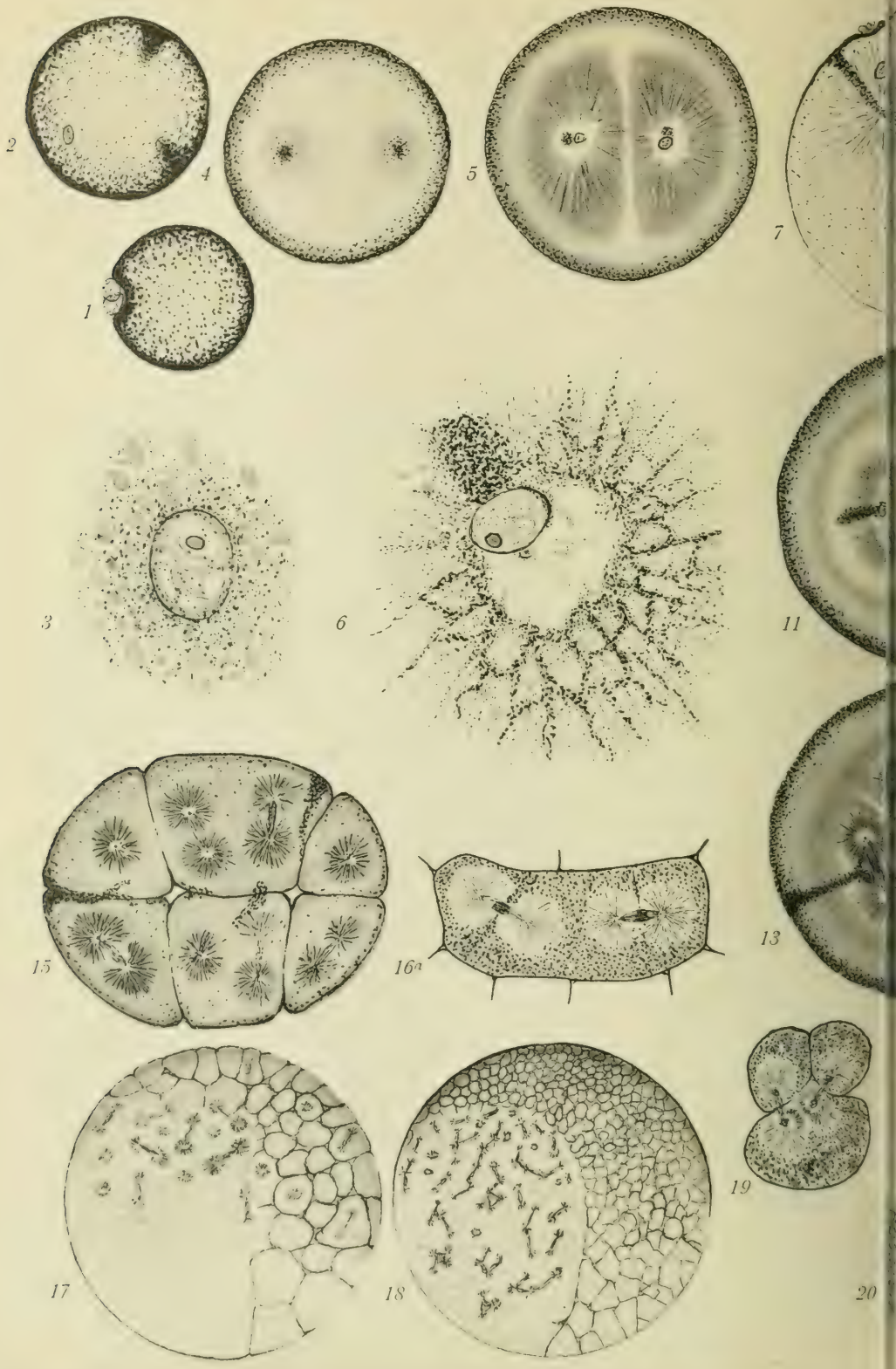
18

21

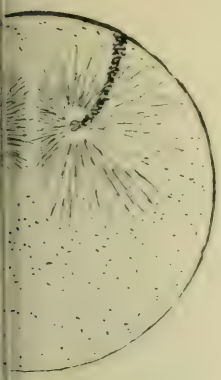
24

23

Phototypie E. Hellemans. Bruxelles.

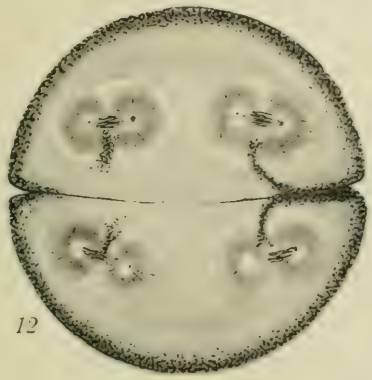


M. Hertant, del.



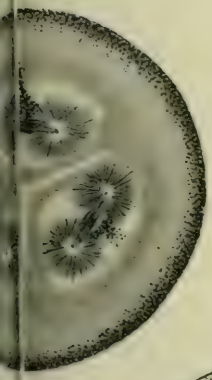
8

9



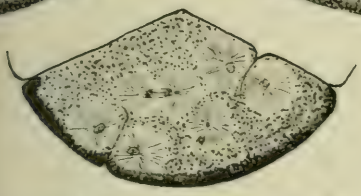
12

10

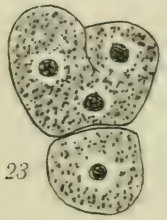


14

16

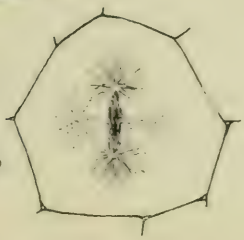


21



23

23a

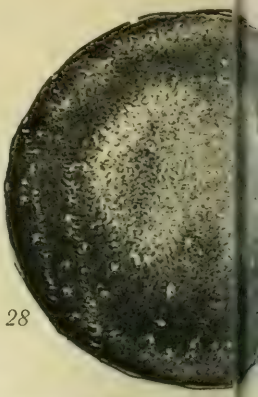


22

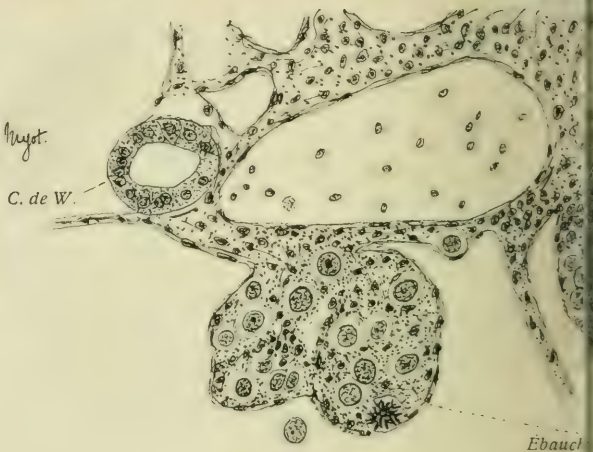
Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

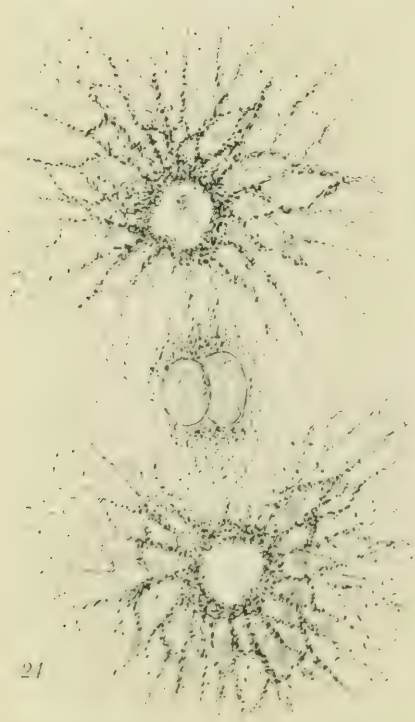
26

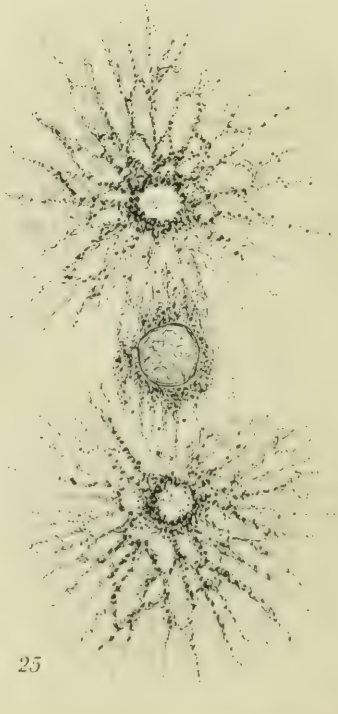
27

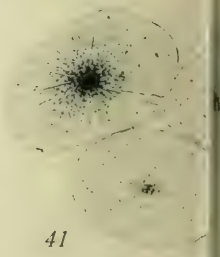

28

31



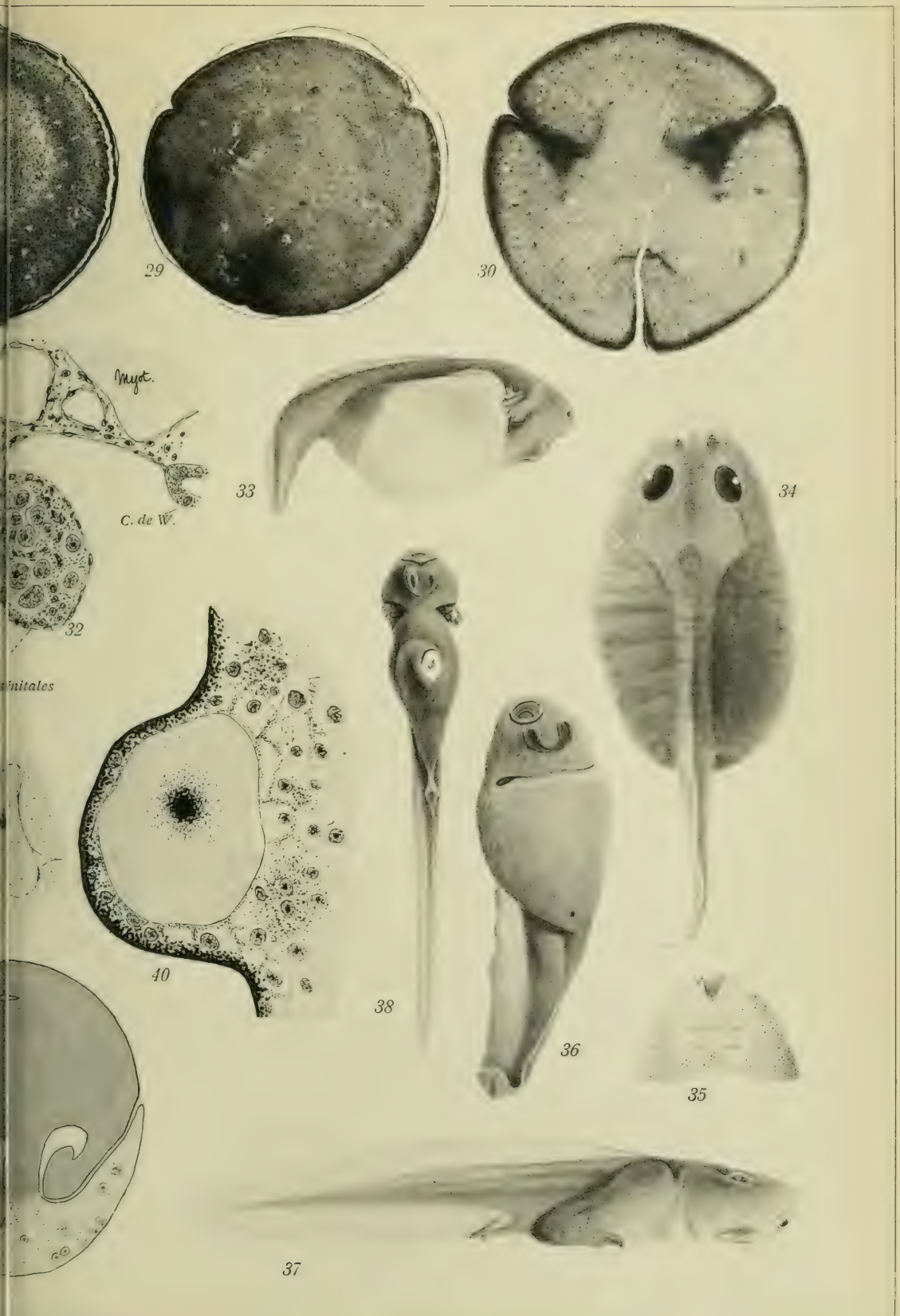

24


25

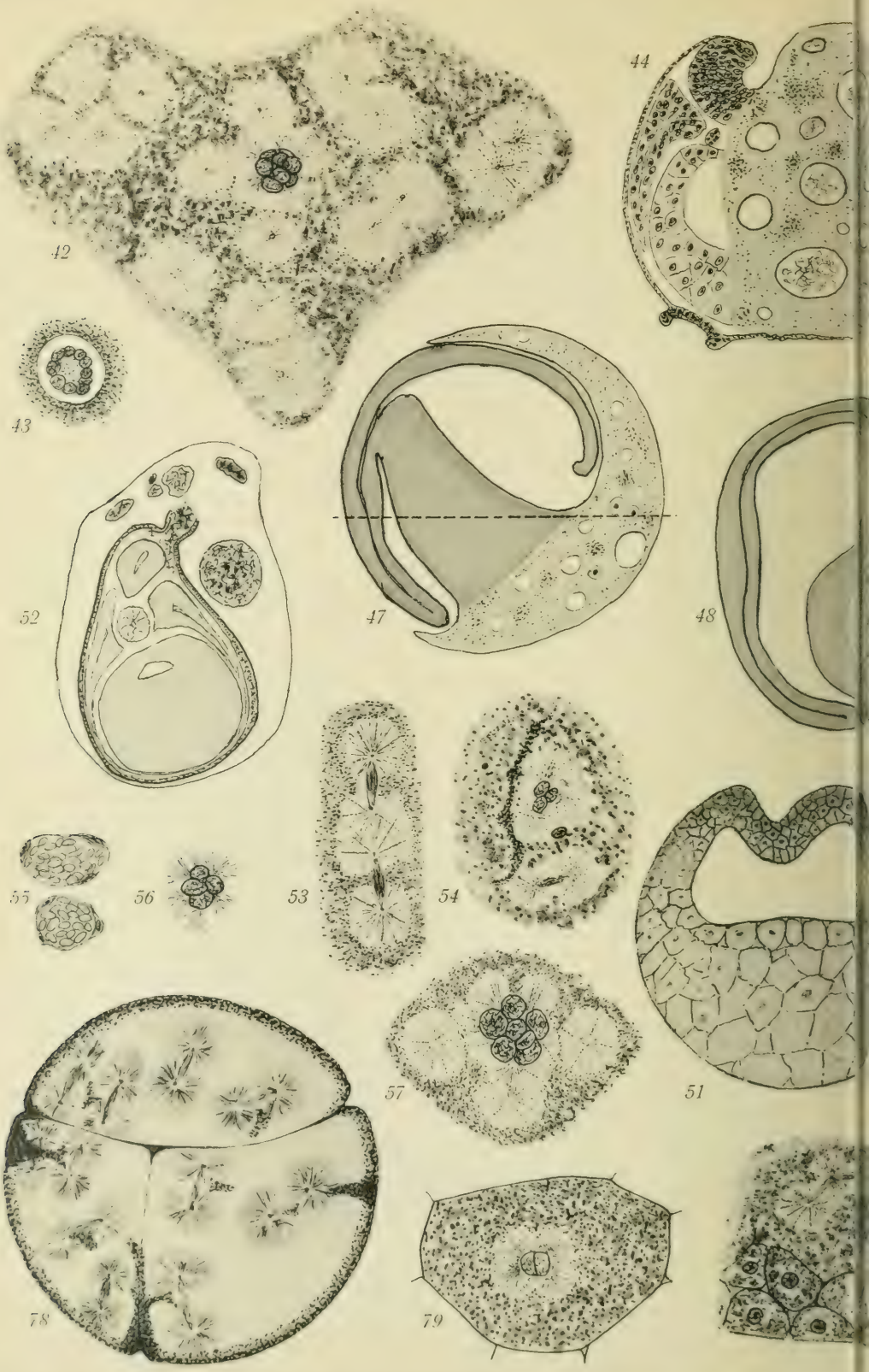

41

39

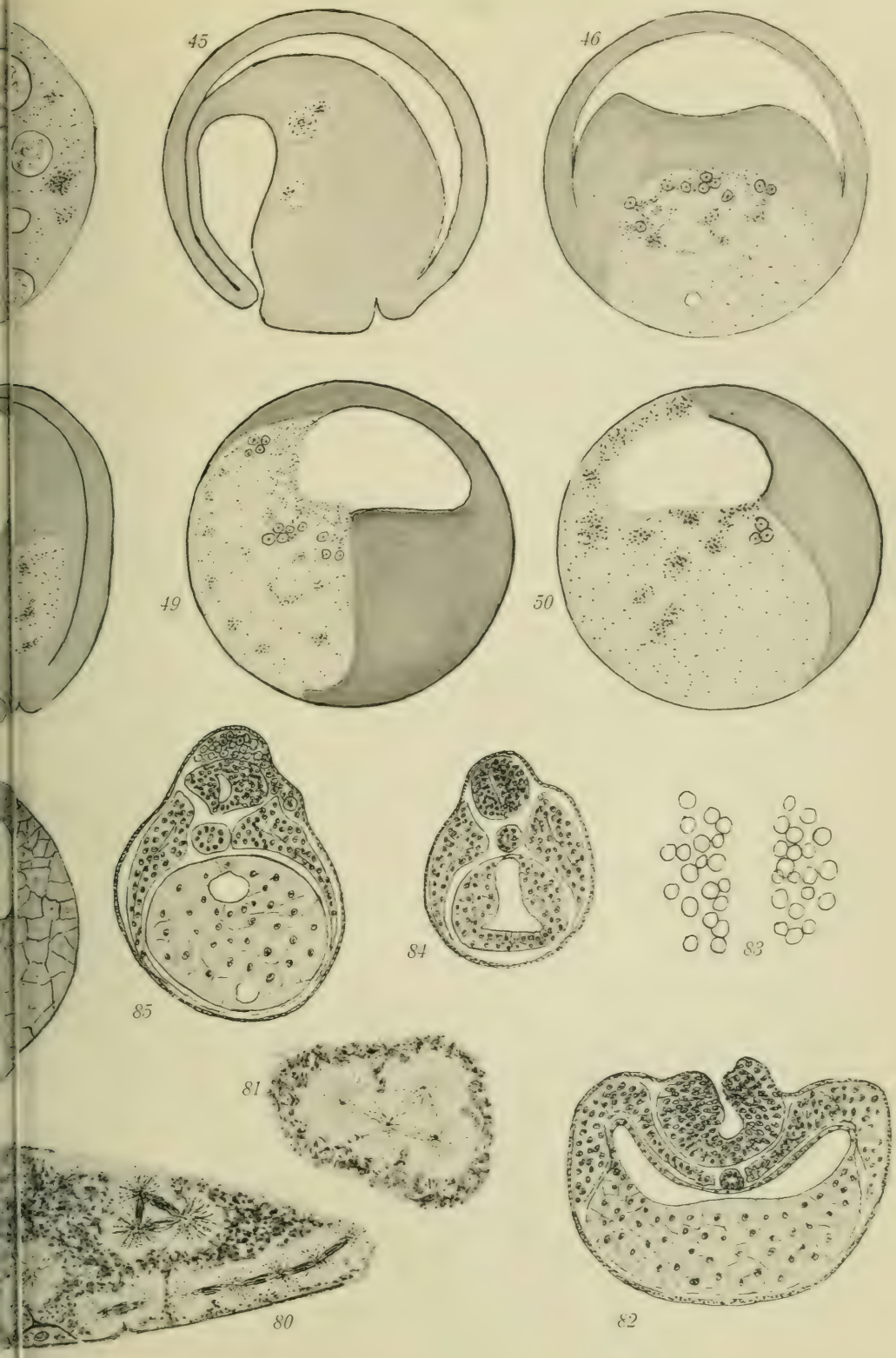
Bondroit & M. Herlant, del.



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

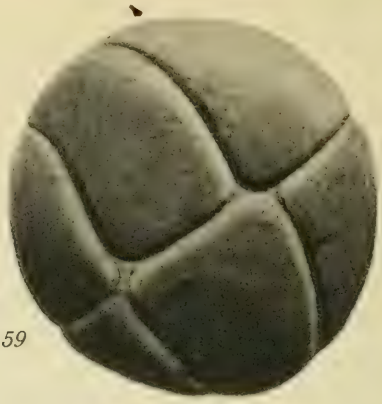


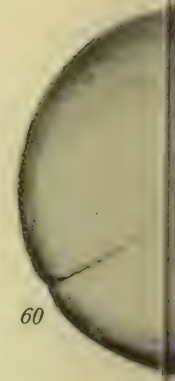
M. Herlant, del.



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

58


59

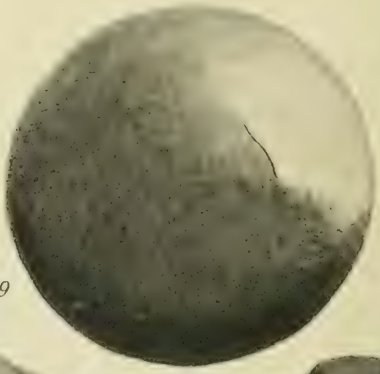

60

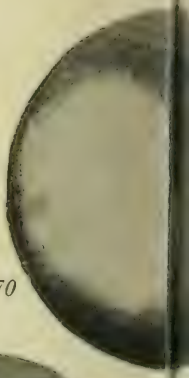
63

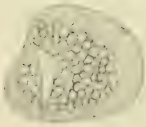
64

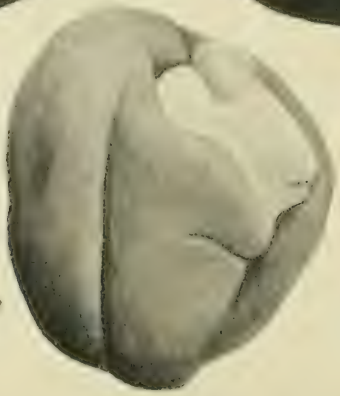
65

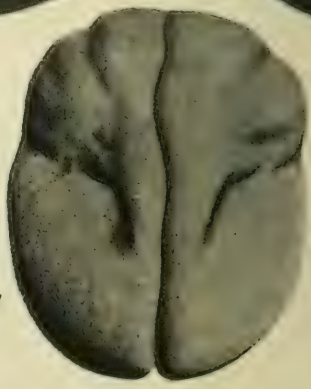
68


69

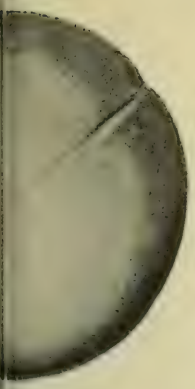

70


77


73

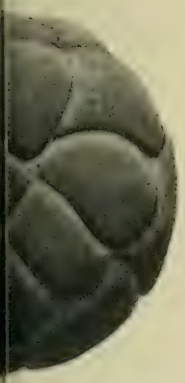

74

Bondroit. del.

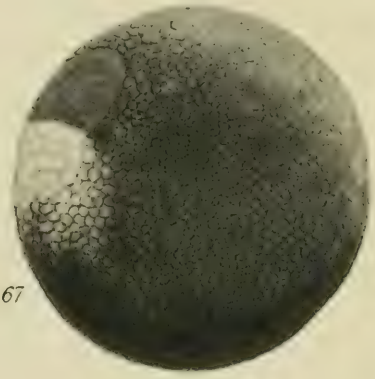


61

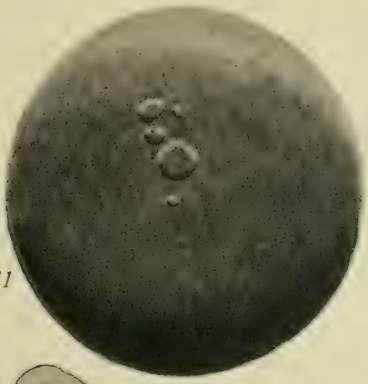
62



66

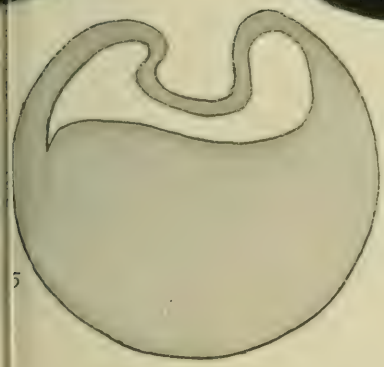


67

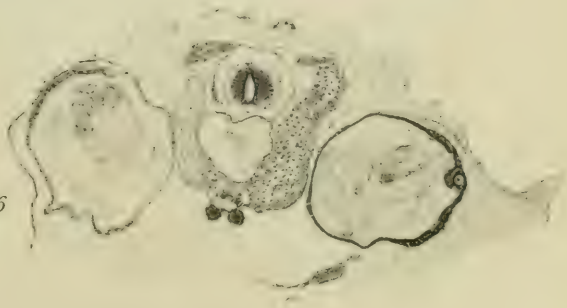


71

72

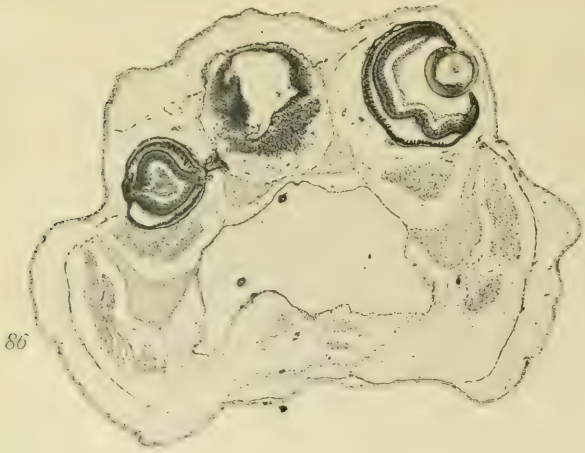


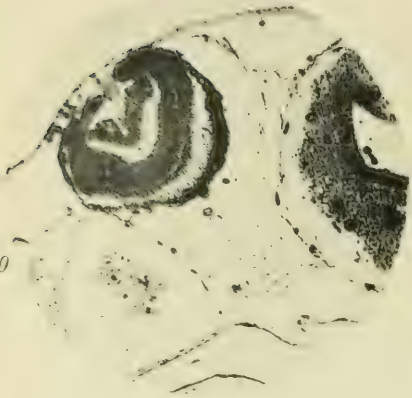
5

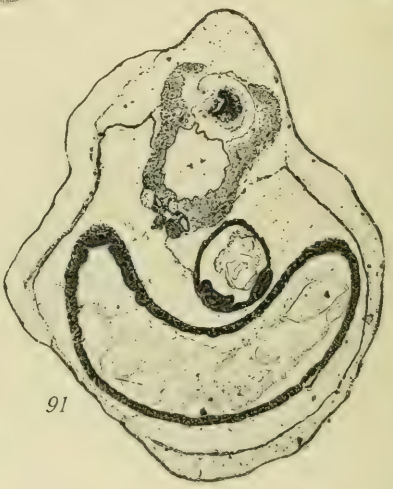


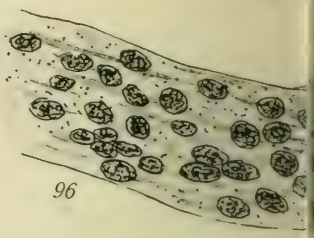
76

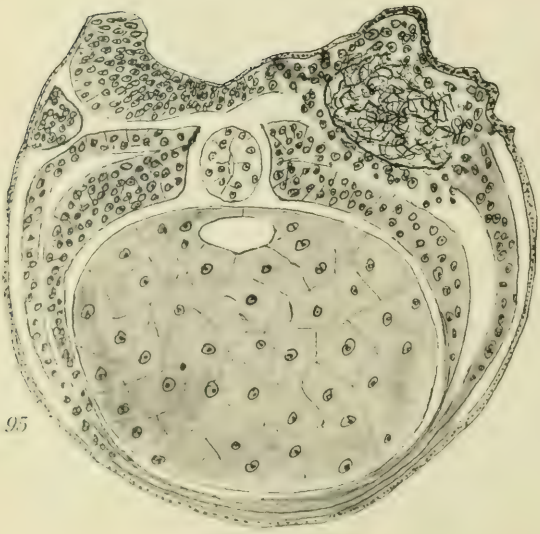
Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

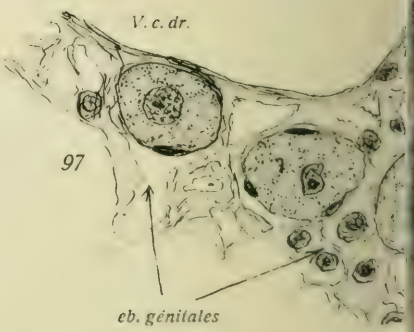




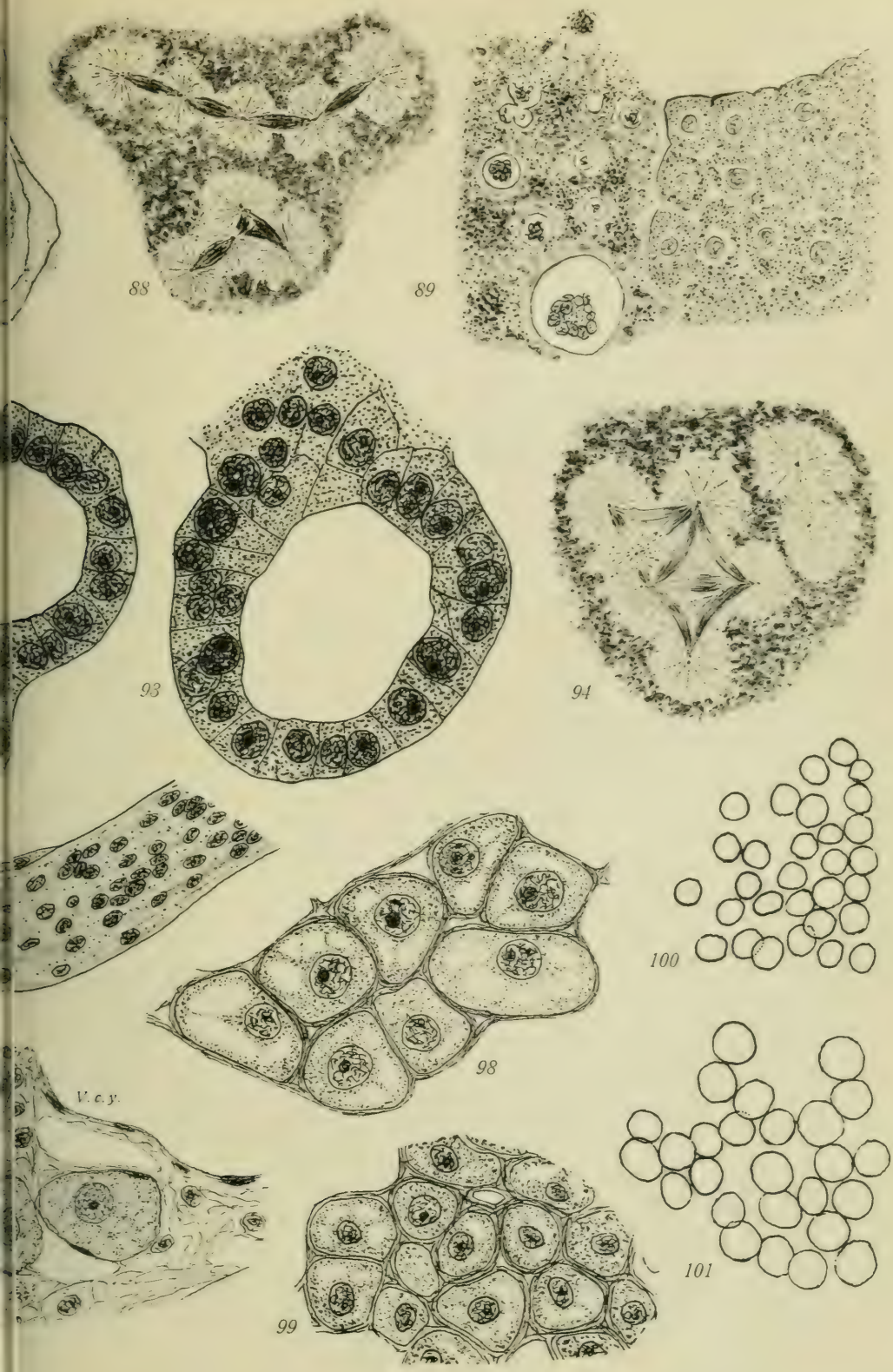








M. Herlant, del.



Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

Fig. 1

Fig. 1a

Fig. 3

Fig. 3a

Bondroit, ad. nat. del.

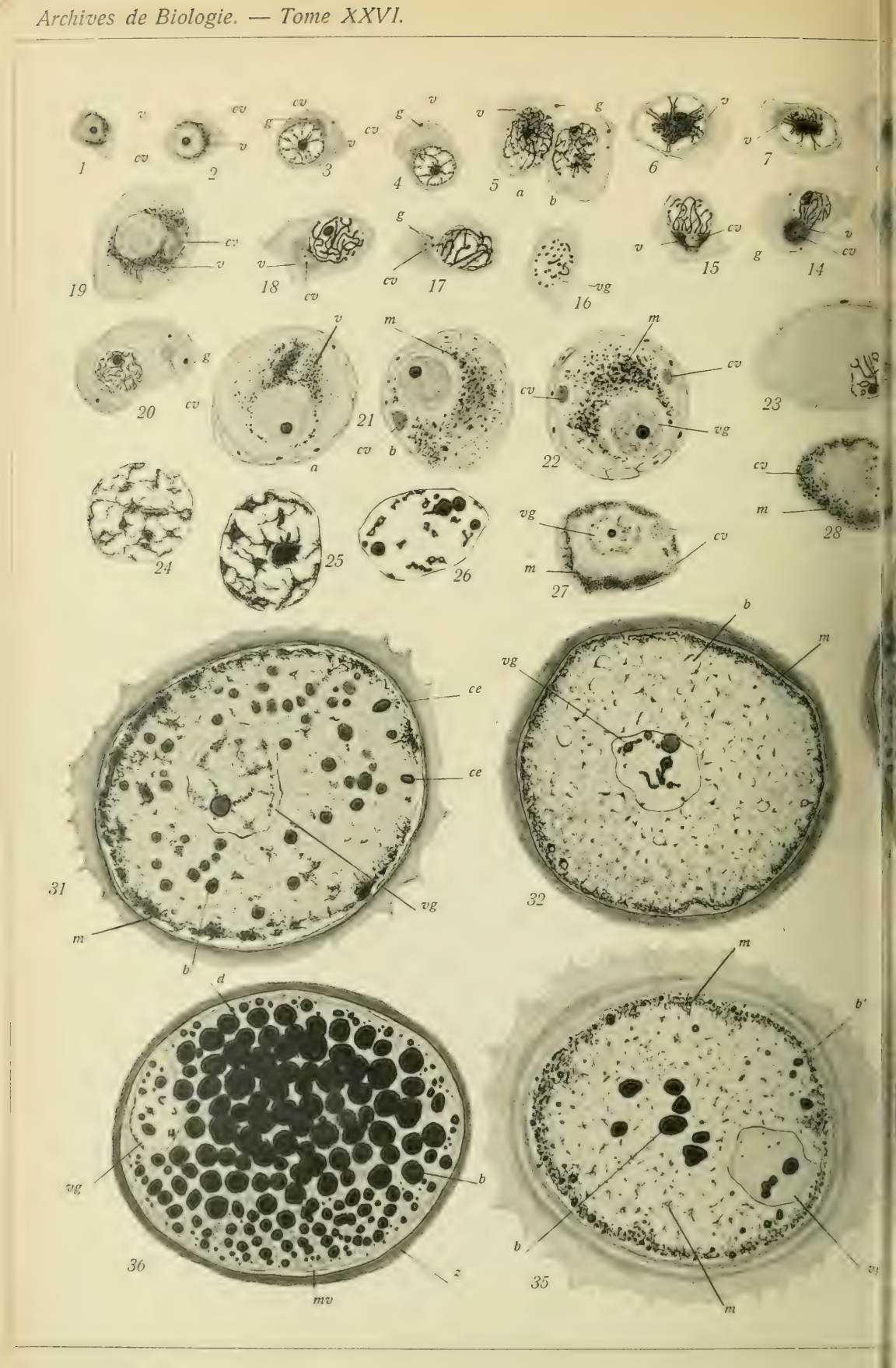
Fig. 2

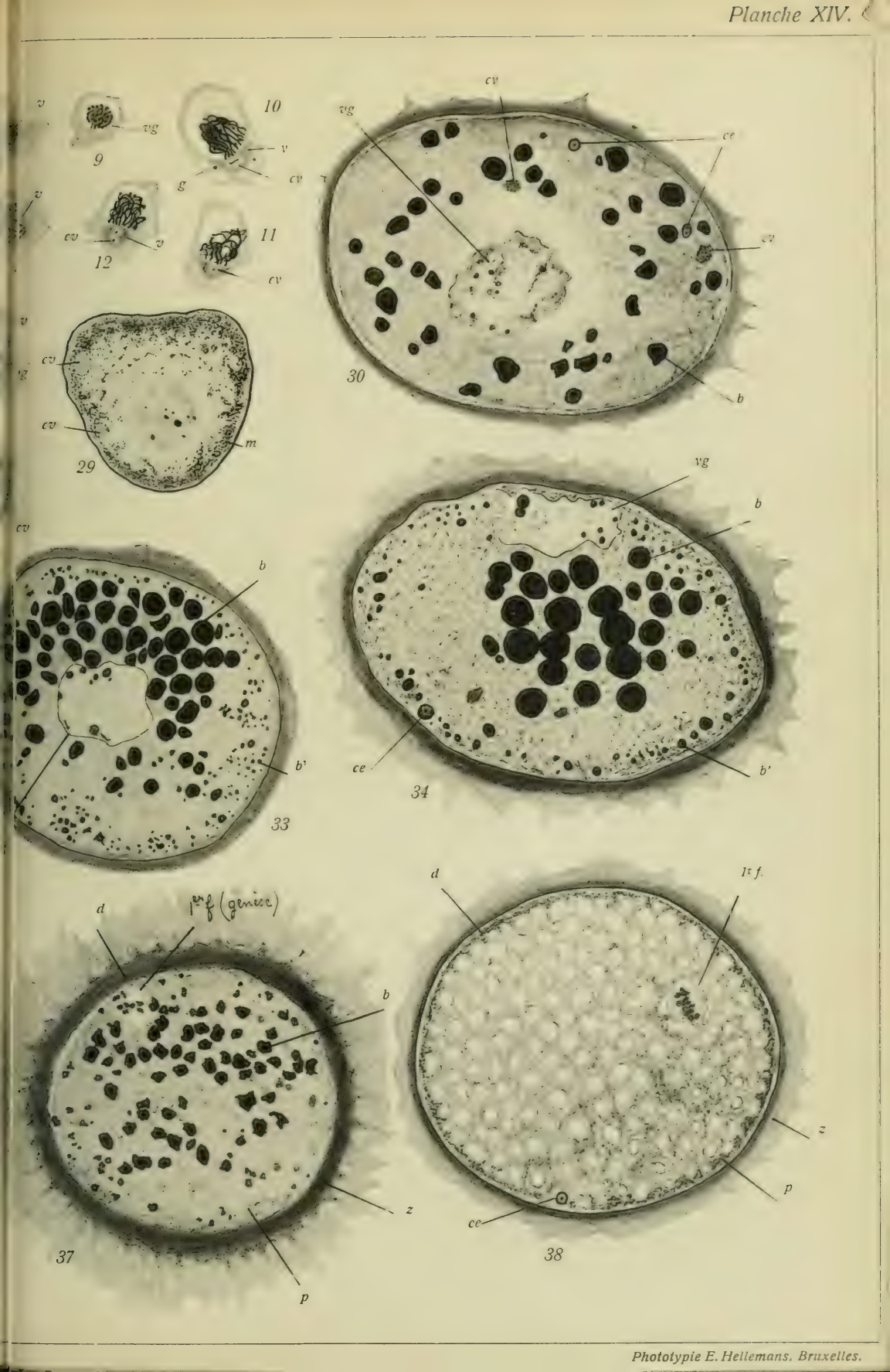
Fig. 2a

Fig. 4

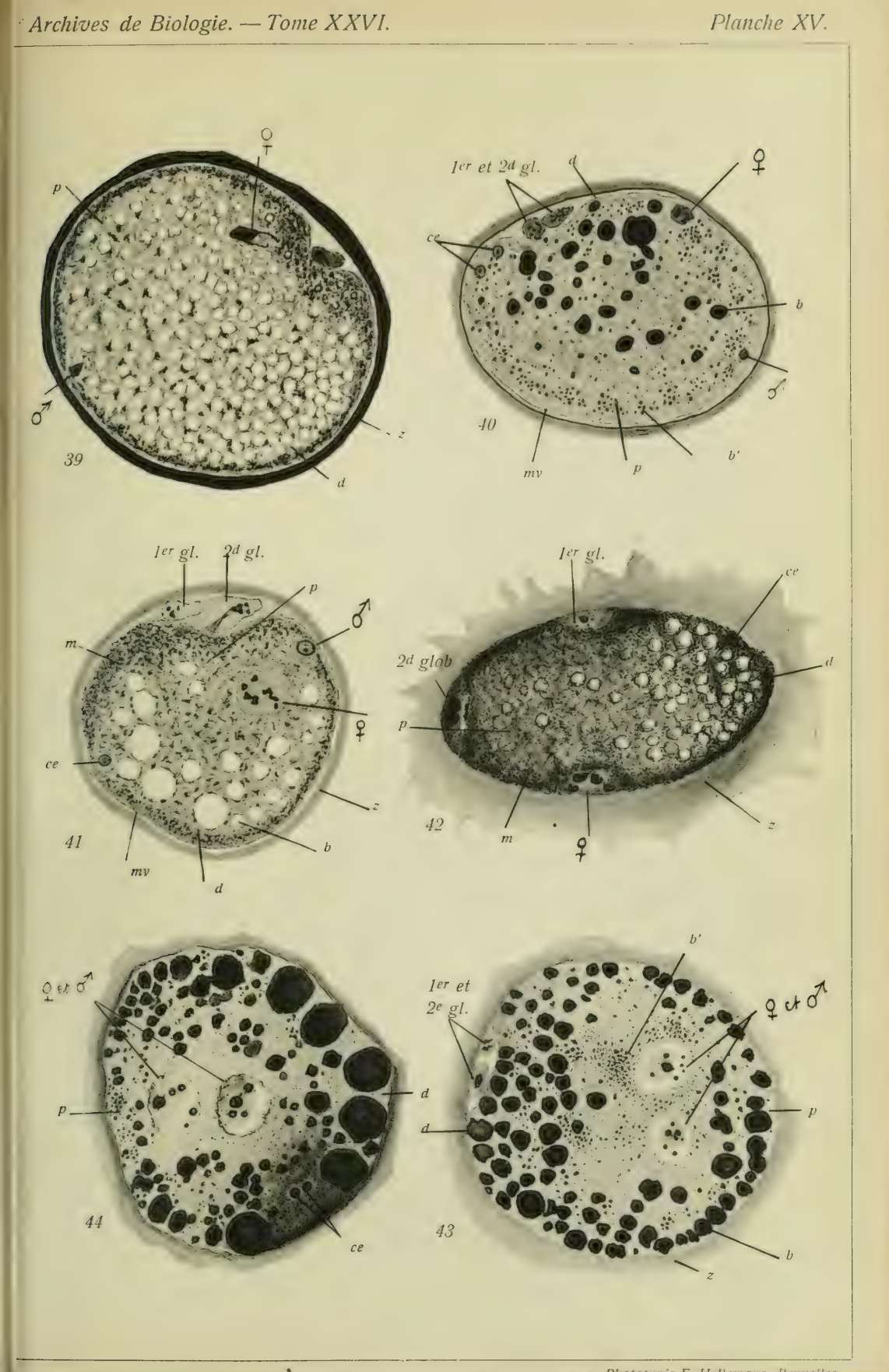
Fig. 4a

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

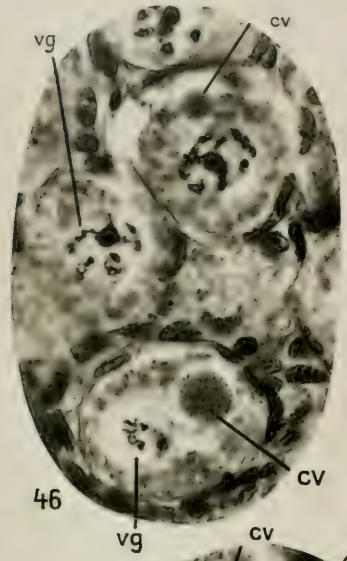

1
2
3
4
5
6
7
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
31
32
35
36
v
cv
g
a
b
m
vg
ce
d
z
mv
b'

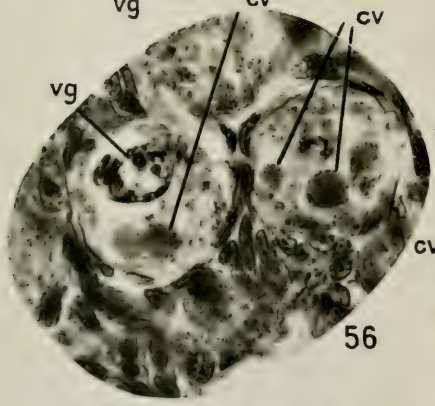


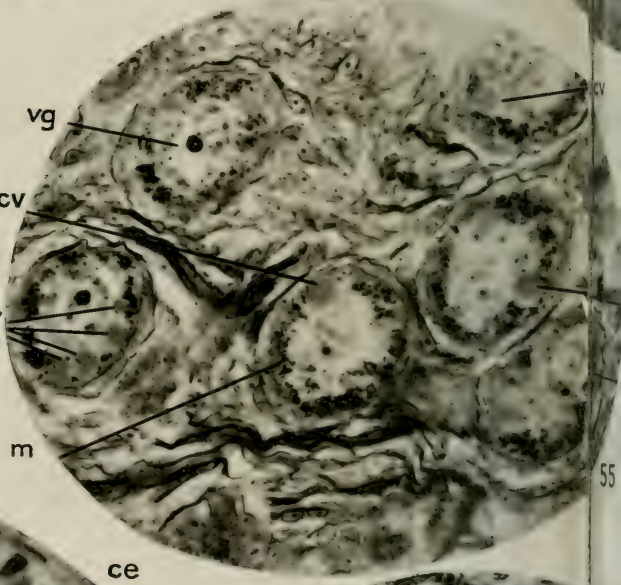
Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

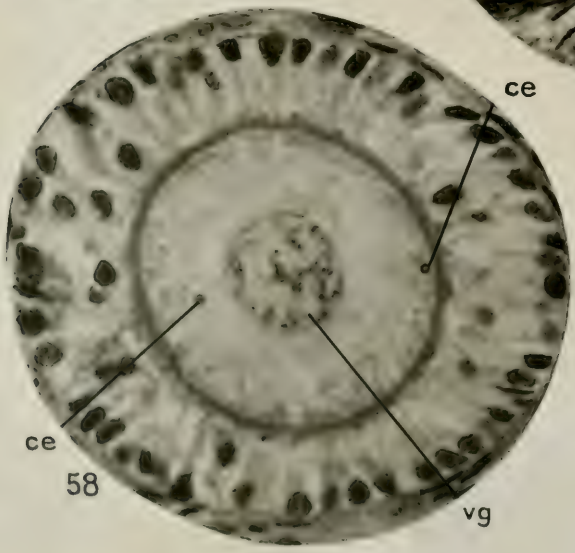


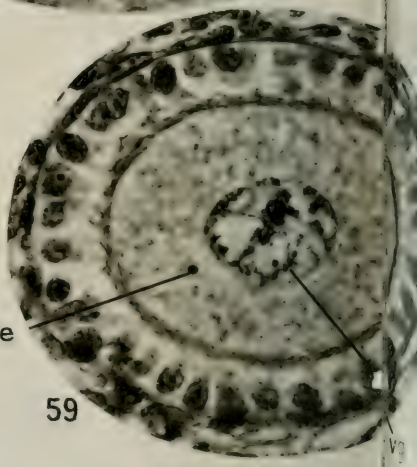
Phototypie E. Hellemans, Bruxelles



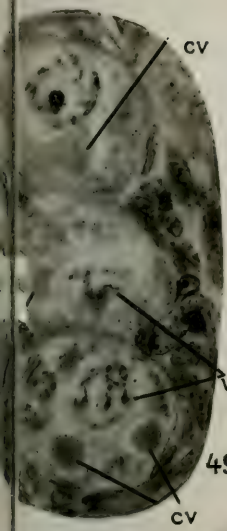








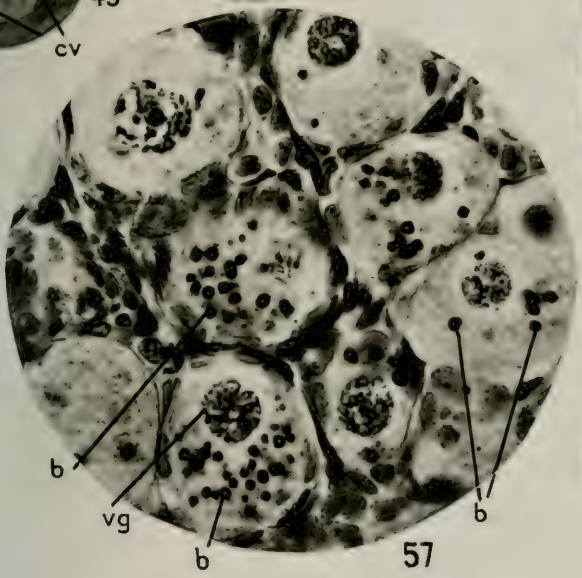
NEUE PHOTOGR. GESELLSCH. A.G. STEGLITZ-BERLIN.

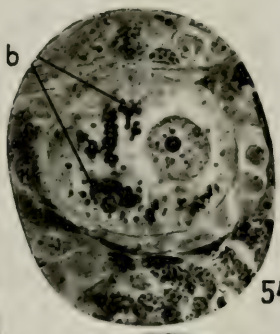

cv
vg
cv
49

cv
m
51

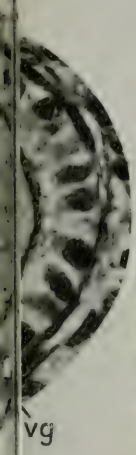
m
52

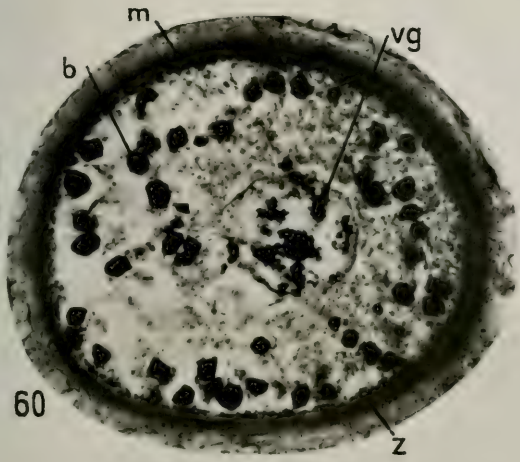
cv
m
55

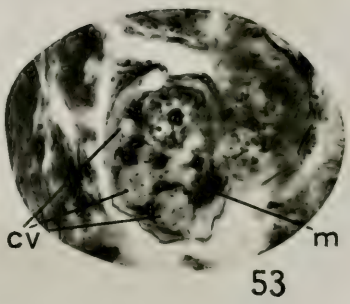

b
vg
b
b
57

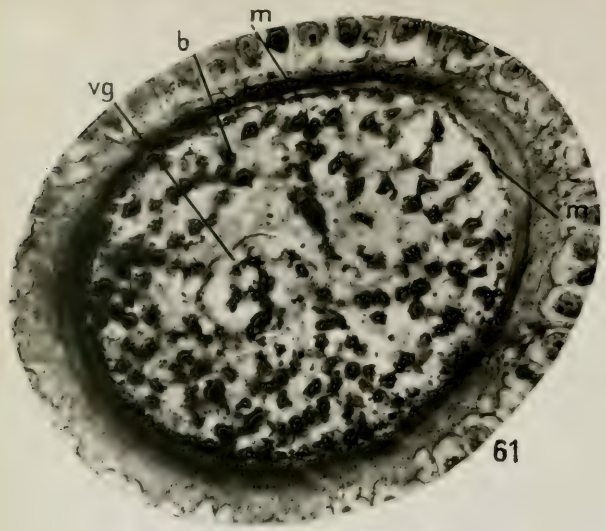

b
54

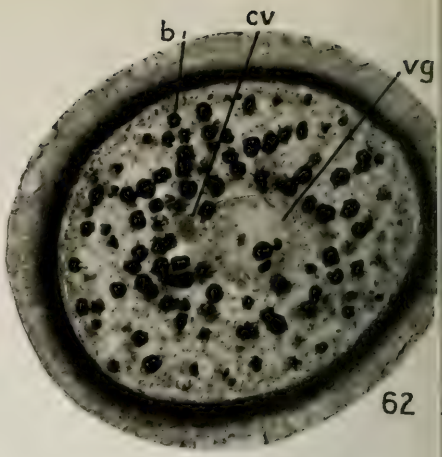
cv
vg
50

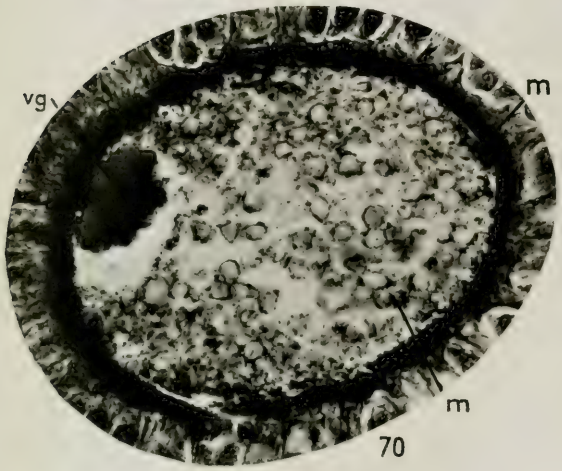

vg

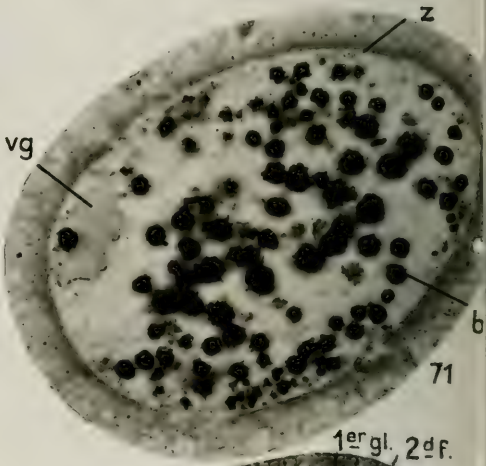

m
vg
b
60
z

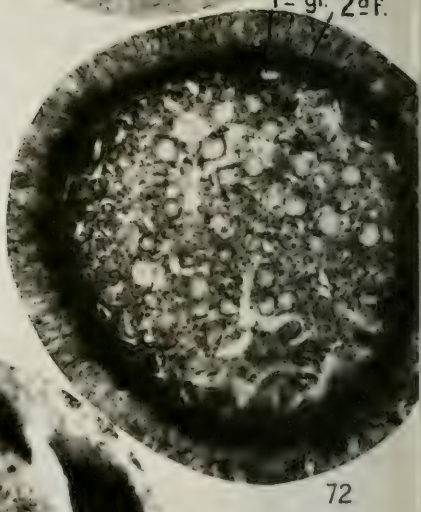

cv
m
53

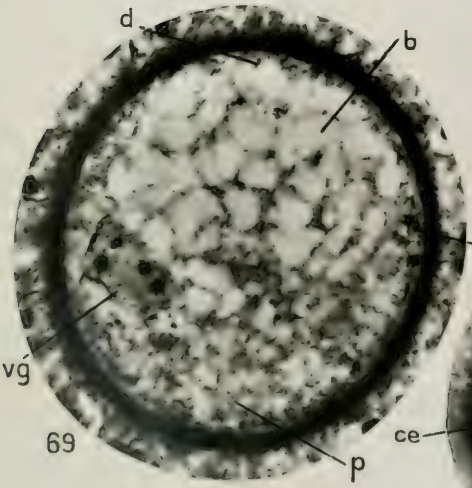


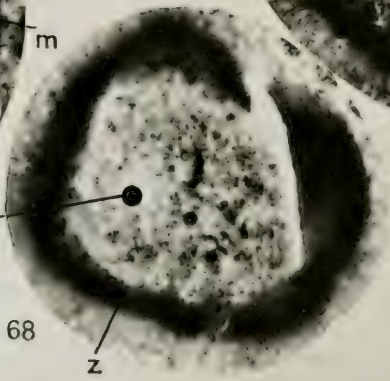




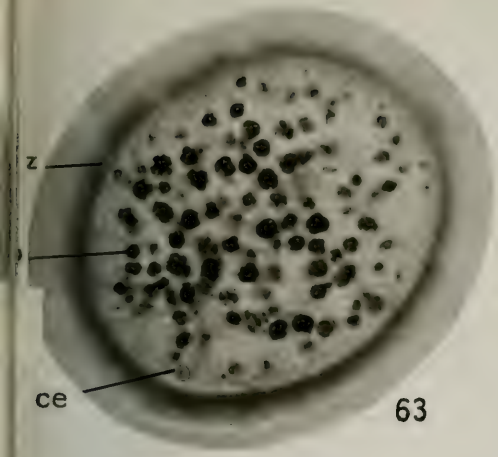


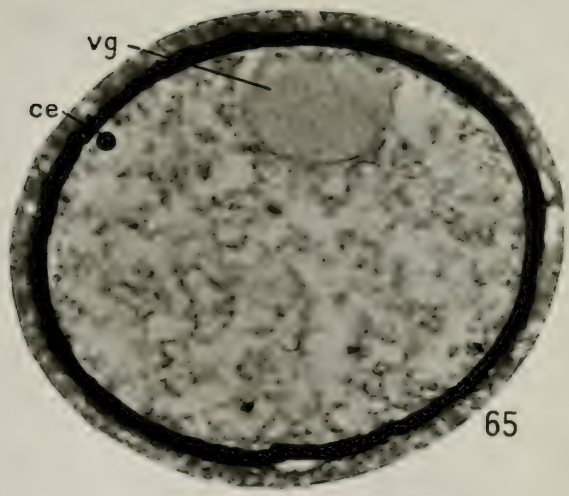


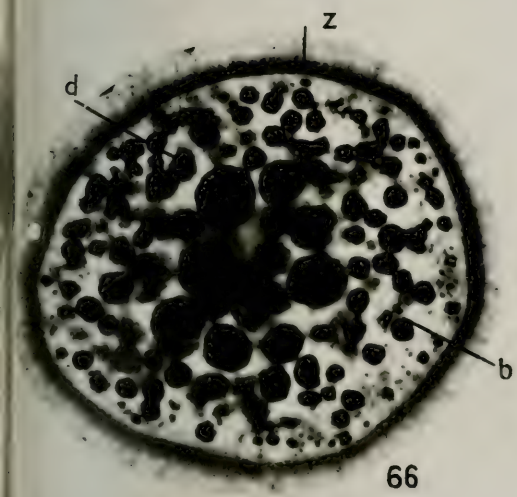


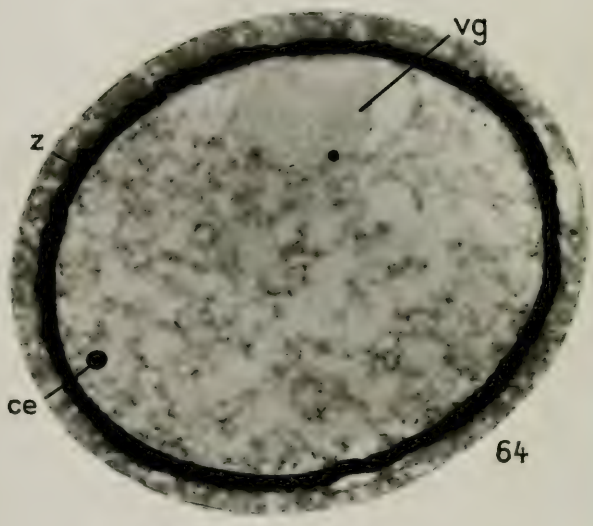


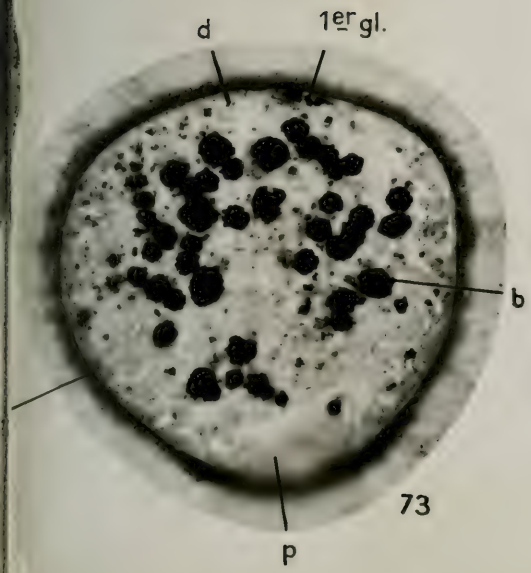
NEUE PHOTOGR. GESELLSCH. A. G. STEGLITZ-BERLIN.

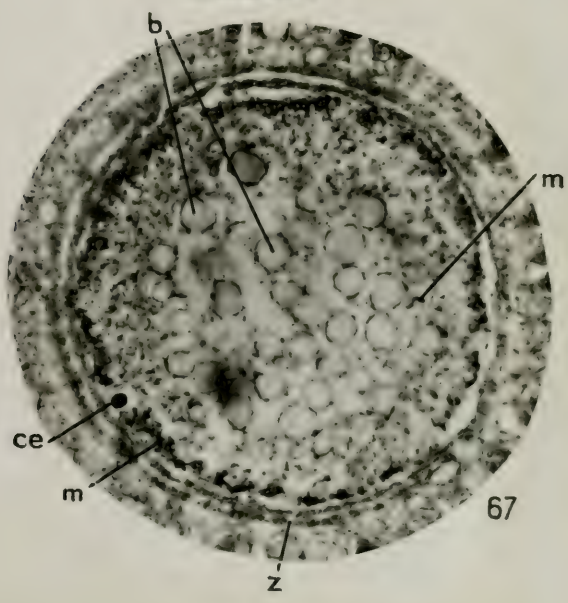

z
ce
63

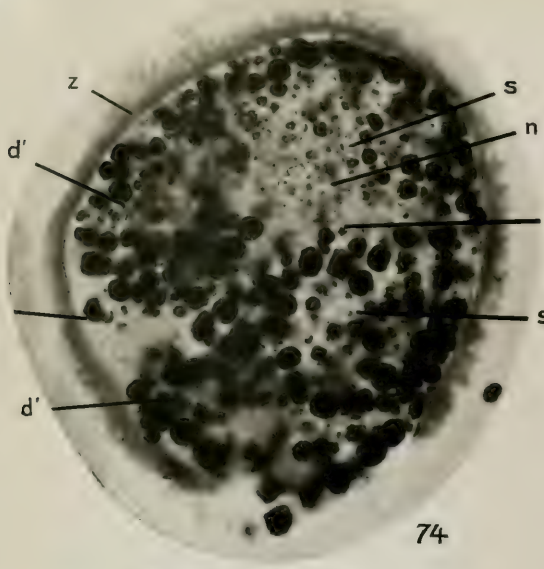

vg
ce
65


z
d
b
66

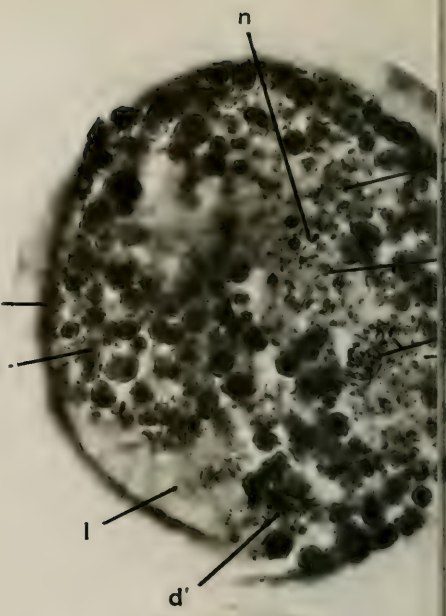

vg
z
ce
64

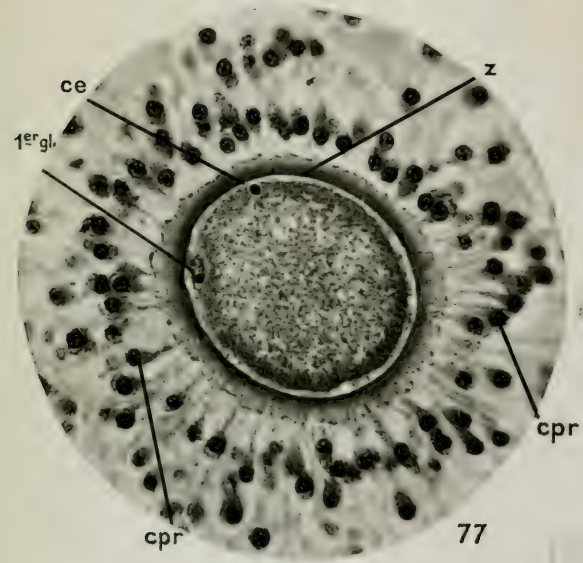

d
1er gl.
b
73
p


b
m
ce
m
67
z

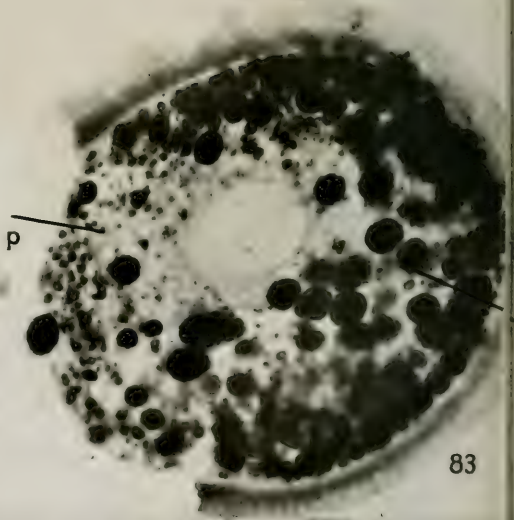


74

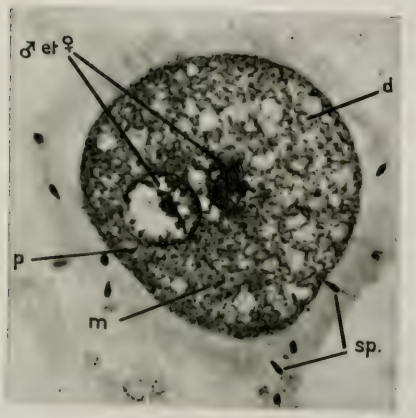




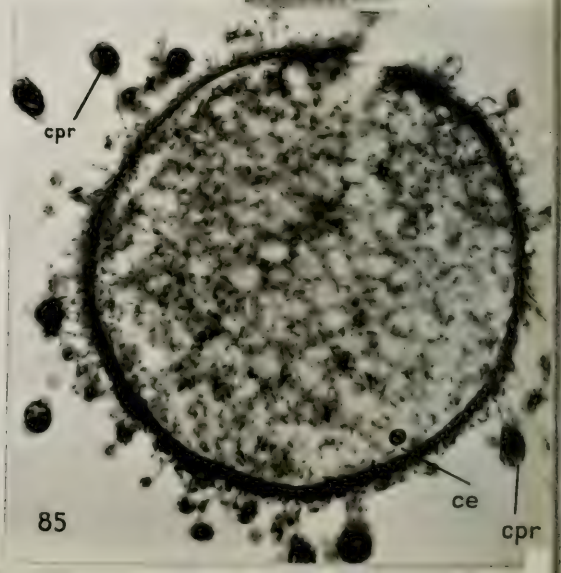
77



83

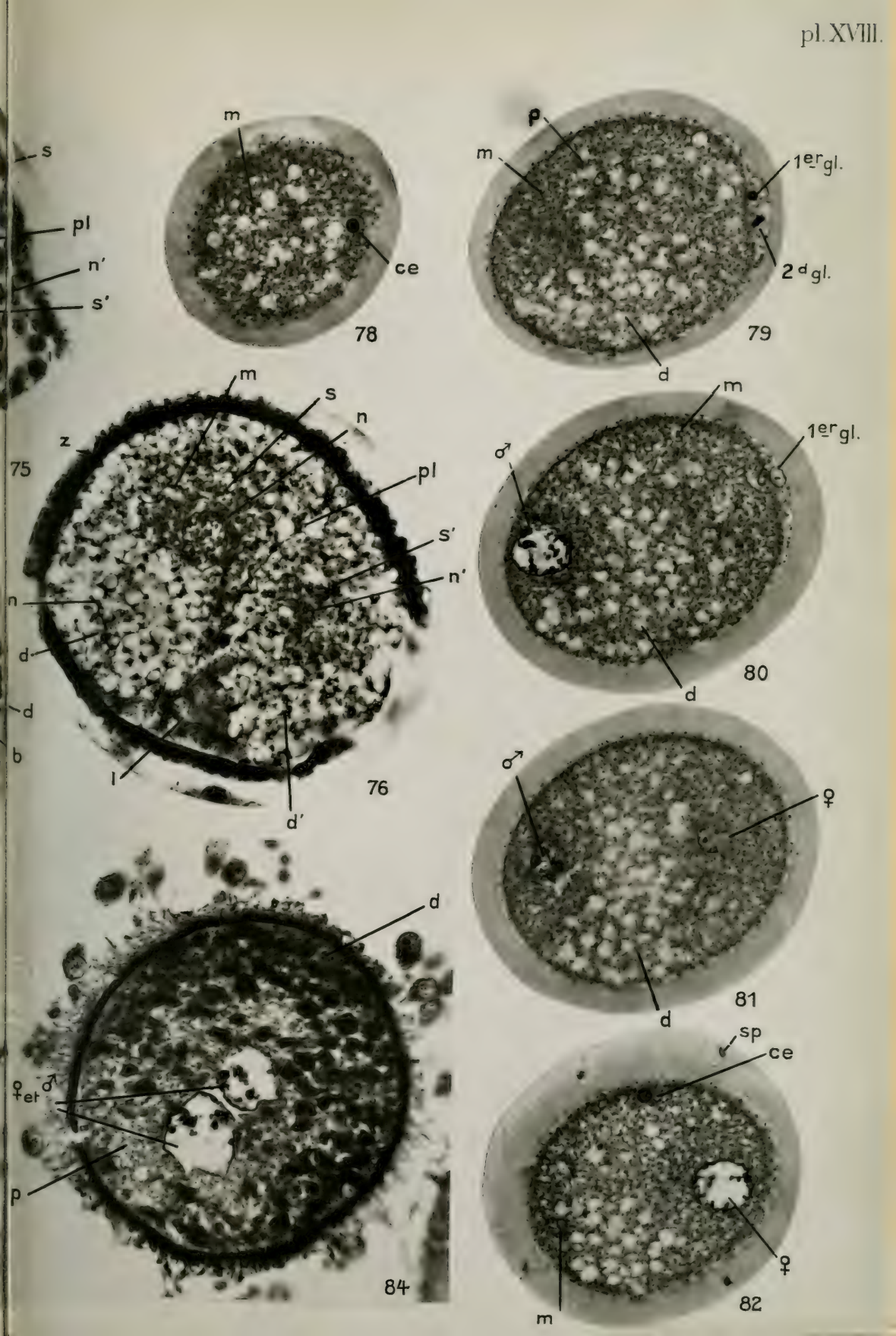


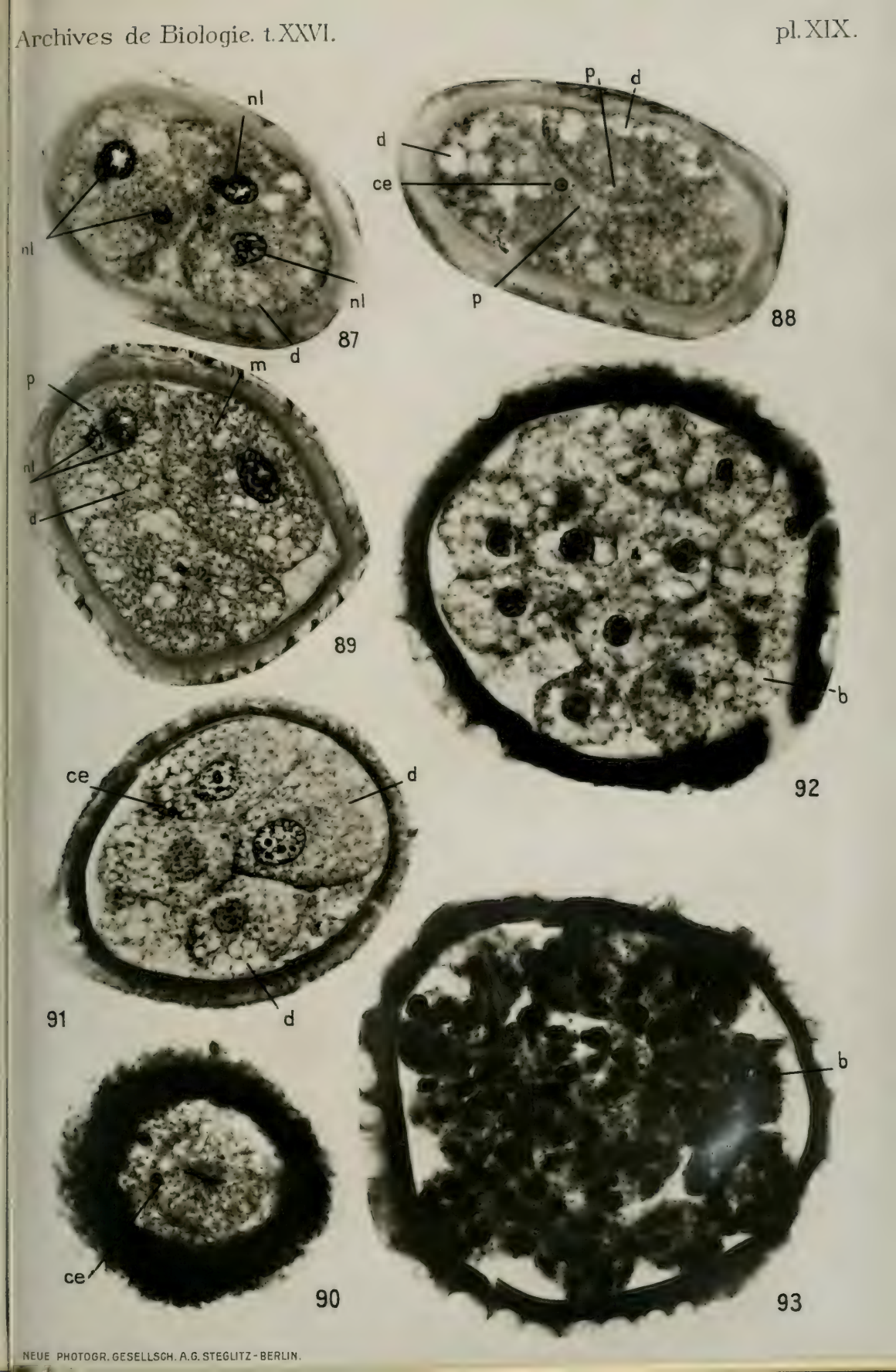
86



85

NEUE PHOTOGR. GESELLSCH. A.G. STEGLITZ-BERLIN.


s
pl
n'
s'
75
m
ce
78
p
m
1er gl.
2d gl.
d
79
z
m
s
n
pl
s'
n'
n
d
d
b
l
d'
76
m
1er gl.
♂
d
80
♂
♀
d
81
d
♀et ♂
p
84
sp
ce
♀
m
82



NEUE PHOTOGR. GESELLSCH. A.G. STEGLITZ-BERLIN.

Fig. 1

Fig. 4

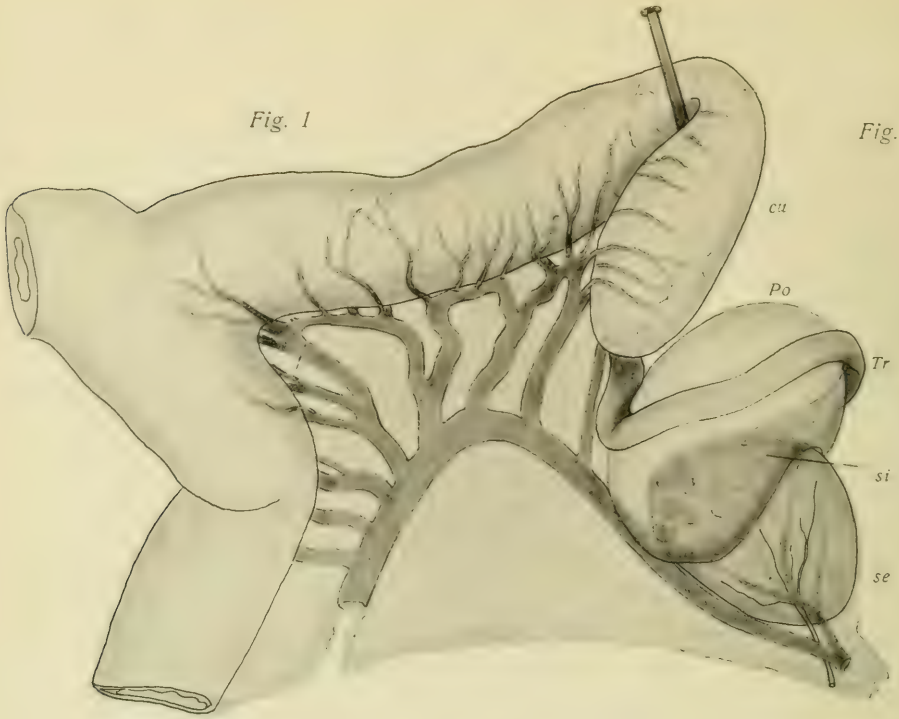
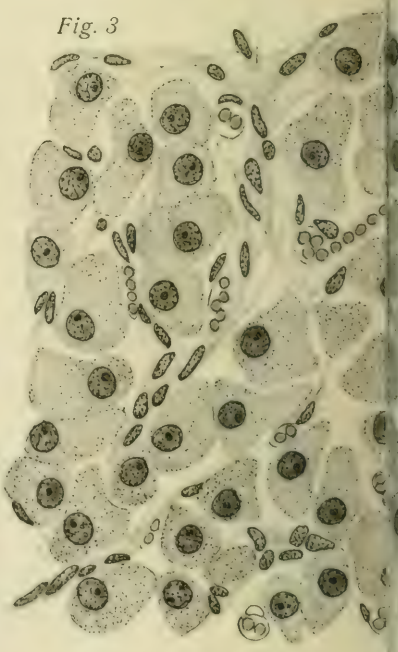


Fig. 2

Fig. 3



N. Popoff, del.

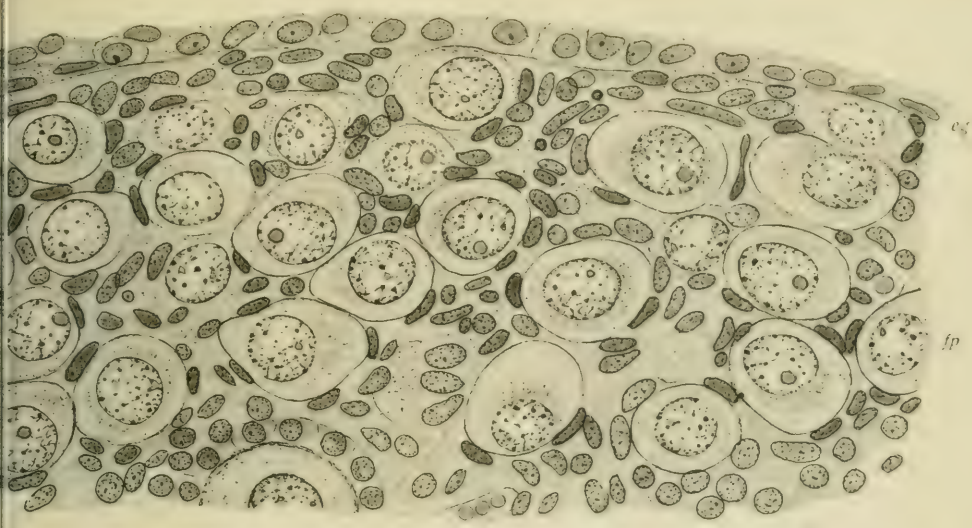


Fig. 5

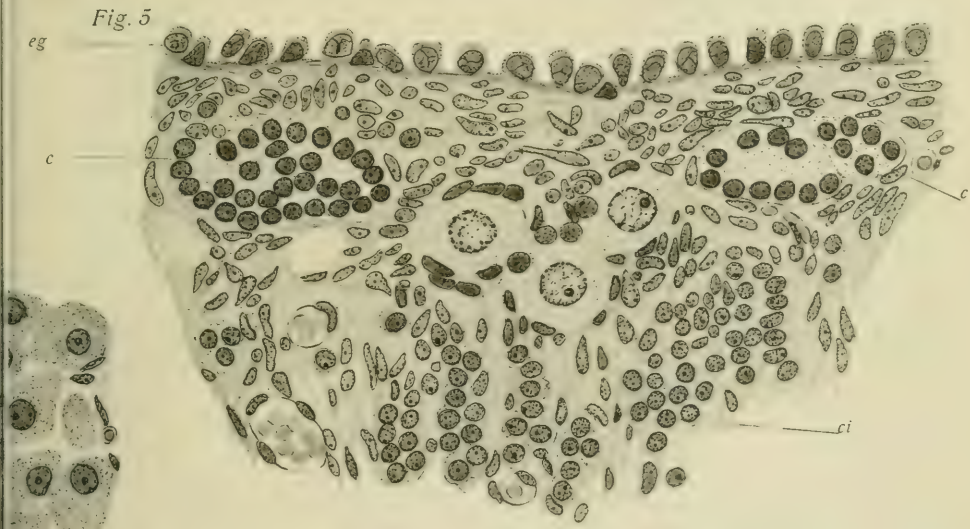


Fig. 6

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

Fig. 7

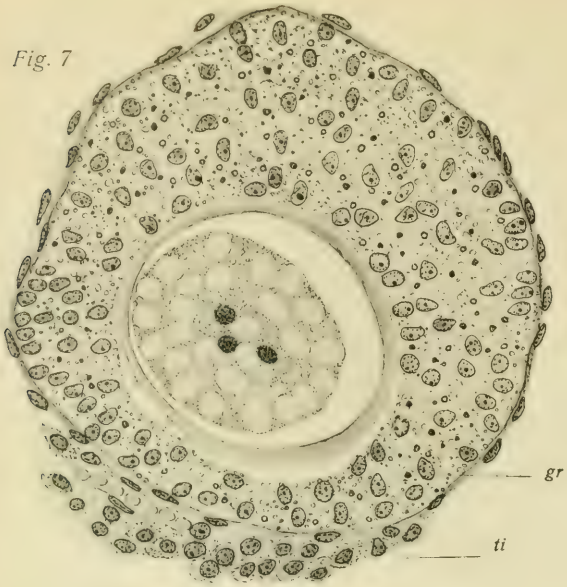


Fig. 8

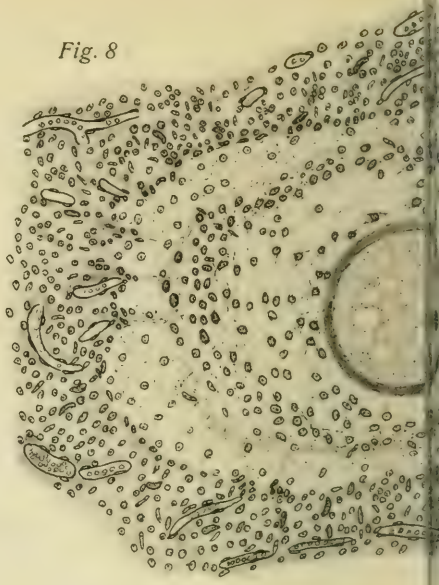
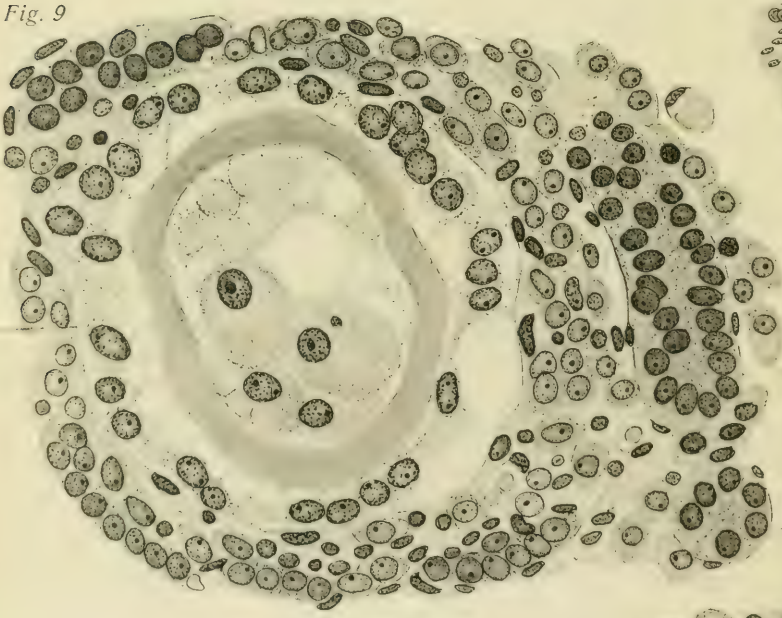


Fig. 9



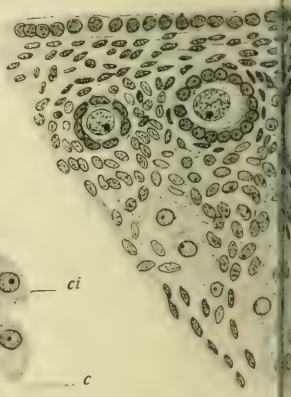


Fig. 12

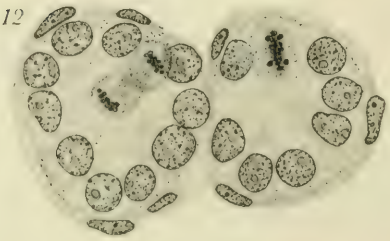
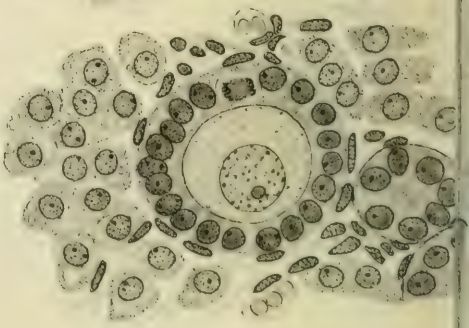


Fig. 13



N. Popoff. del.

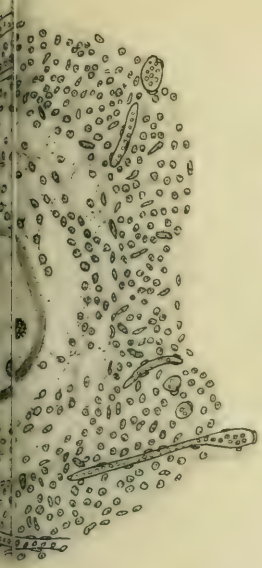


Fig. 10

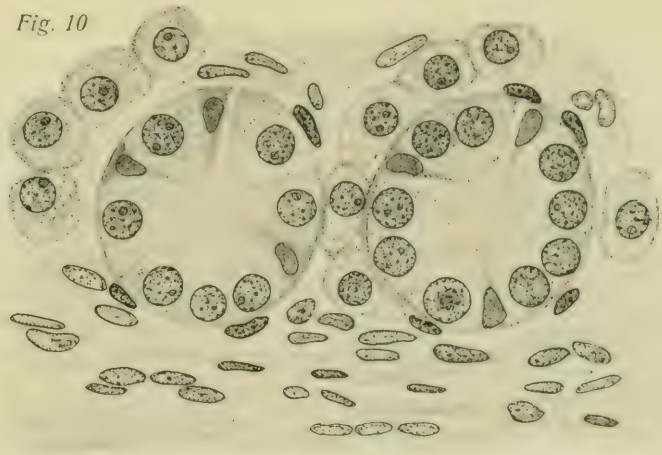


Fig. 15

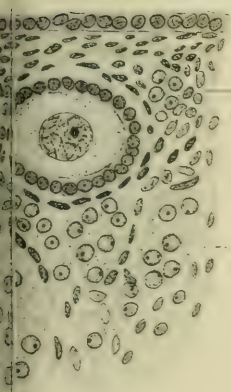


Fig. 11

Fig. 14

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

Fig. 19

Fig. 17

Fig. 16

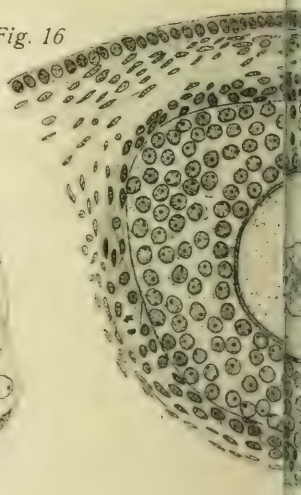
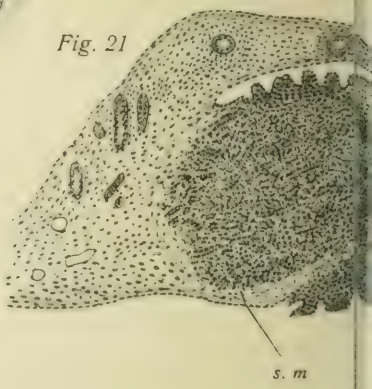
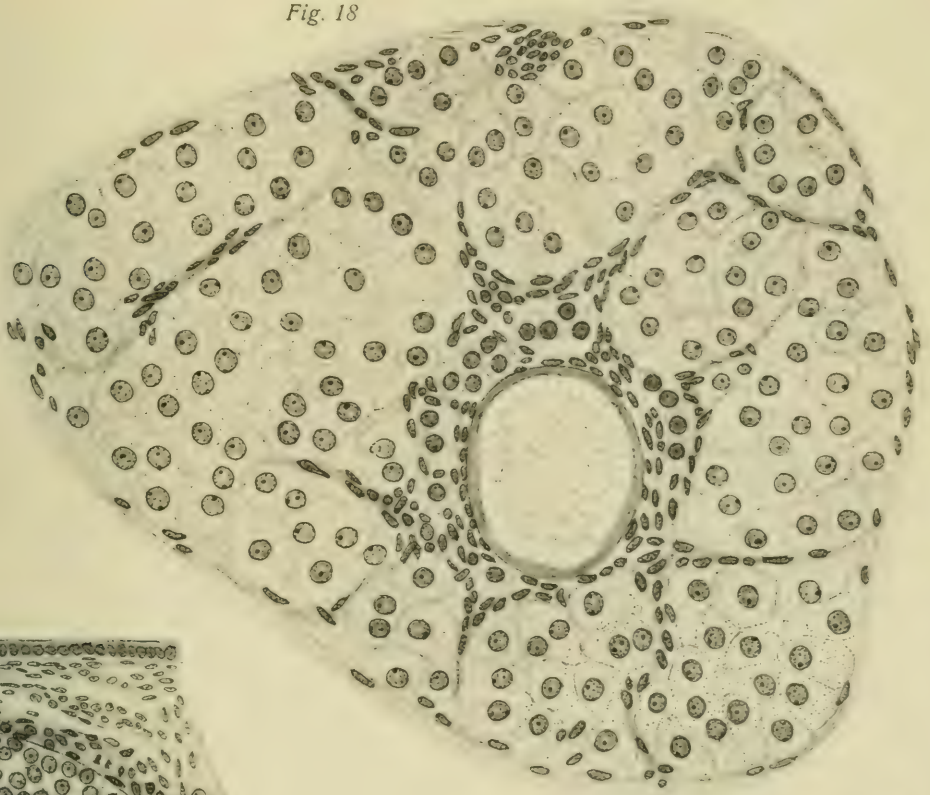


Fig. 21



N. Popoff, del.

Fig. 18



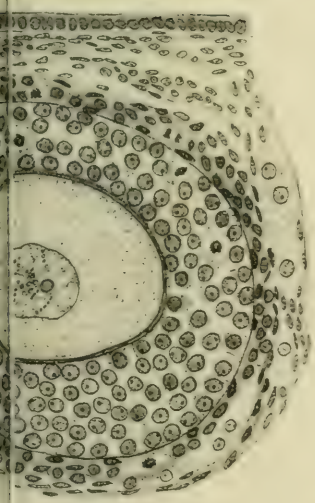
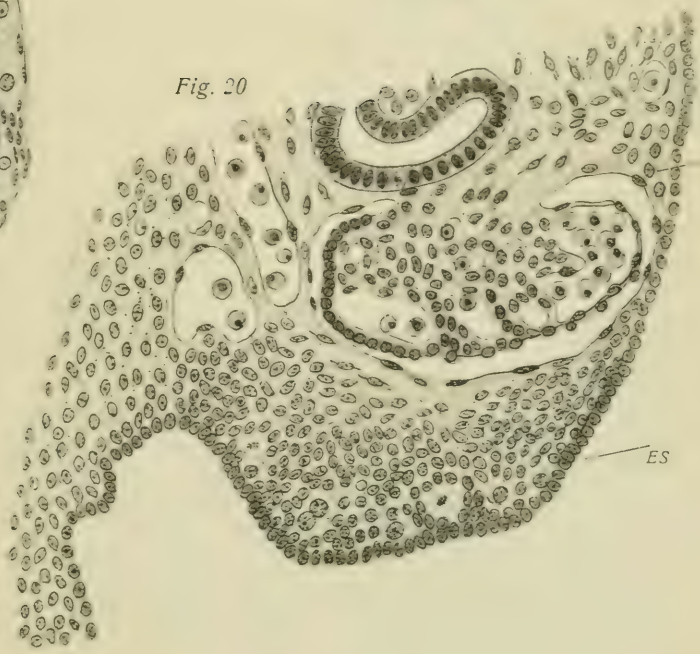
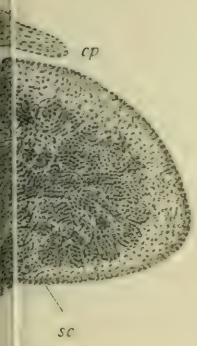


Fig. 20





Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

Fig. 22

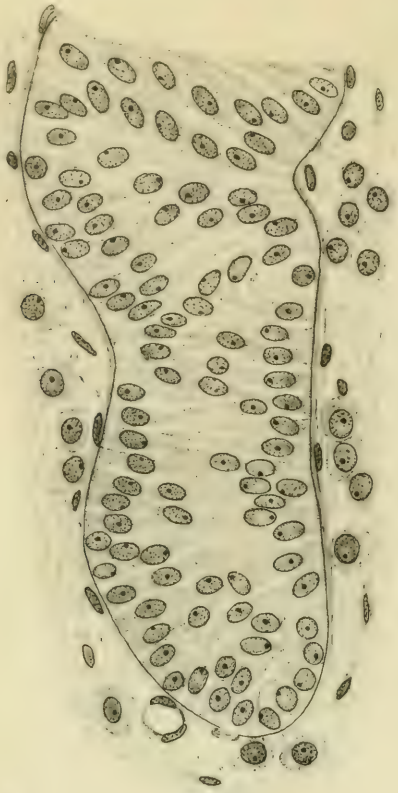
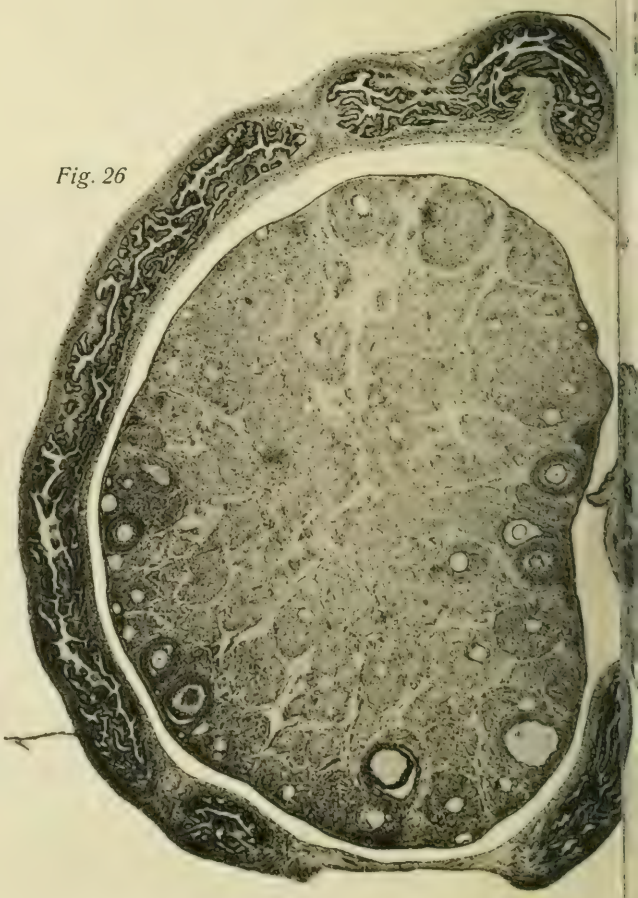


Fig. 23

Fig. 24

Fig. 26



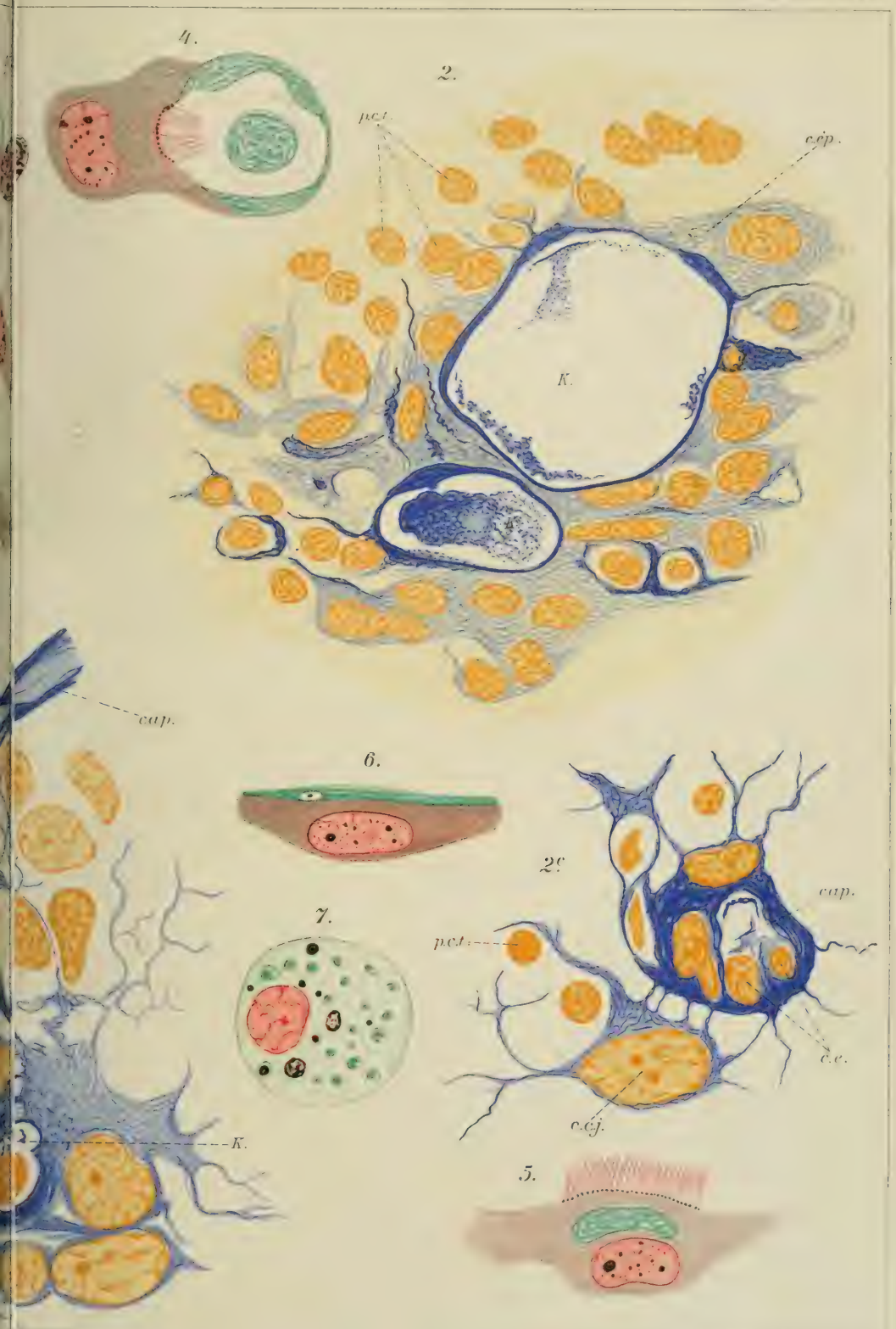
N. Popoff. del. — I. Burnier phot.

Fig. 25

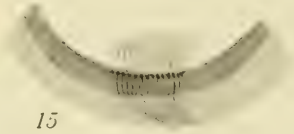
Fig. 27

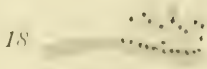
Phototypie E. Hellemans Bruxelles.

A.P.Dustin del.



Lith. Anst. v. E.A. Funke, Leipzig.





A. P. Dustin, Del.

Phototypie E. Hellemans, Bruxelles.

QH
301
A557
v.26

Archives de Biologie

Call no.
Periodical title
Vol.

Archives de Biolog
vol. 26 1911

DATE	NAME OF BORROW
Sept. 25 49	[illegible]
9/8/77	[illegible]
3-19-84	J Rendes

KET
Y

UTL AT DOWNSVIEW
D RANGE BAY SHLF POS ITEM C
39 10 14 19 03 013 6